

## 学 位 論 文 要 旨

研究題目

Experimental conditions and protein markers for redifferentiation of human coronary artery smooth muscle cells

(ヒト冠動脈平滑筋細胞の再分化の実験条件と蛋白マーカー)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻

環境病態制御系

環境病態医学(指導教授 若林 一郎 )

氏 名 篠崎 亮太

【背景と目的】動脈平滑筋細胞の表現型は、成長因子等の様々な要因により分化した収縮型から脱分化した増殖型へと形質転換し、この現象は動脈硬化の病因として重要である。一方、増殖型から収縮型への再分化の詳細な機序は解明されていない。そこで本研究では、一般の培養条件として増殖因子存在下での脱分化した増殖型の冠動脈平滑筋細胞 (human coronary arterial smooth muscle cells[HCASMCs]) において、再分化が誘導される培養条件とその際のマーカー蛋白を明らかにすることを目的とした。

【方法】48 時間で 100%コンフルエントの状態 (Day2) に達するように HCASMCs を培養皿に播種した。2 日目 (Day2) から 6 日目 (Day6) の細胞から蛋白を抽出し、ウェスタンブロッティングにより、血管平滑筋細胞の収縮型マーカーである calponin、 $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA)、caldesmon、SM22  $\alpha$ /tagln と、増殖型マーカーである proliferating cell nuclear antigen (PCNA)、S100A4 をそれぞれ検出し、HCASMCs の表現型を判定した。HCASMCs の遊走能は、wound healing assay を用いて評価した。成長因子として epidermal growth factor、fibroblast growth factor-B、insulin を用いた。

【結果】Day2 に比べて Day5 では、5 つの収縮型マーカーの発現がいずれも有意に上昇し、逆に 2 つの増殖型マーカーの発現は低下した。Day5 の遊走能は Day2 に比べて有意に低下していた。したがって 100%コンフルエントの状態から培養液を交換せずに 3 日間放置することにより、増殖型から収縮型への再分化が誘導されることが判明した。また、成長因子の非存在下での培養により再分化が誘導された。一方、成長因子を供給し続けた際には、Day5 には calponin 以外の収縮マーカーの発現に有意な上昇はみられなかったが、calponin の発現は有意に上昇した。

【考察】成長因子の非存在下での培養により HCASMCs の再分化が誘導されることが明らかになった。また培養液に成長因子を供給し続けて脱分化の状態を維持した際には、calponin とその他の収縮型マーカーの発現機序が異なることが判明した。したがって calponin と他の収縮型マーカー蛋白では成長因子により誘導される遺伝子転写シグナルが異なる可能性が示唆された。