

Title	A multifunctional transcription factor (Alp145) regulates the smooth muscle phenotype in mesangial cells(Abstract_要旨)
Author(s)	Takeoka, Hiroya
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	1999-01-25
URL	http://hdl.handle.net/2433/182281
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	none

氏名	たけおかひろや 竹岡浩也
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2067号
学位授与の日付	平成11年1月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	A multifunctional transcription factor (Alp145) regulates the smooth muscle phenotype in mesangial cells (メサンギウム細胞における多機能を有する転写因子 (Alp145) の平滑筋形質制御の研究)
	(主査)
論文調査委員	教授 成宮 周 教授 西川伸一 教授 北 徹

論 文 内 容 の 要 旨

各種の糸球体疾患で最も重要であるメサンギウム細胞は、中胚葉由来で平滑筋細胞が特殊に分化した細胞と考えられている。その分化型細胞はIV型コラーゲンの発現に富み、平滑筋細胞の形質を有するとともに細胞増殖能は低いことを特徴とする。一方、未分化型細胞ではIV型コラーゲンの発現は減少し、平滑筋細胞形質を失うとともに、増殖能を獲得して線維芽細胞形質を有するようになる。本研究ではラット培養メサンギウム細胞を用いてin vitroにおけるメサンギウム細胞の分化・未分化の制御機転を明らかにするため、IV型コラーゲン ($\alpha 1$ -IV型コラーゲン) の遺伝子プロモーター領域に対する結合蛋白 (Alp145) の役割について検討した。このAlp145はアンギオテンシノーゲン等数種の遺伝子結合蛋白やDNA複製因子Cなどとの相同性を有しており、増殖や分化に関与する多機能を有する蛋白である。

ラットメサンギウム細胞は継代を重ねることにより、IV型コラーゲン、平滑筋 α アクチンなどの平滑筋細胞形質の発現が減少し、I型コラーゲンの発現や細胞増殖能も亢進して未分化型形質に変化した。一方、脱メチル化を誘導する5アザサイチジン処理により、その未分化型への移行が阻害された。

この未分化過程における形質変化は転写制御の変化によって引き起こされていると考えられる。これら遺伝子のプロモーター・エンハンサー領域のメチル化は分化型および未分化型細胞で差は認められなかった。一方、IV型コラーゲンのプロモーター領域に対する結合蛋白 (Alp145) のゲルシフトアッセイを行ったところ、結合蛋白の発現量は継代とともに増加し、IV型コラーゲンのmRNA発現と負の相関を示した。この結果よりAlp145はIV型コラーゲンの負の転写因子である可能性が示唆された。これを検証するため同結合蛋白をコードする遺伝子に対するアンチセンスを導入してその効果を検討した。未分化型細胞にマイクロインジェクション法を使ってアンチセンスを導入し、Alp145、IV型コラーゲン、平滑筋 α アクチンおよびPCNAのmRNA発現をRT-PCR法で検討した。アンチセンス導入細胞ではAlp145の発現が著明に減少し、さらにIV型コラーゲンの発現が増加しており、Alp145がIV型コラーゲンの負の転写因子であることが明らかとなった。さらにこのアンチセンス導入細胞は著明な平滑筋 α アクチンの発現増強とPCNAの発現減少が認められ、分化型細胞形質に誘導された。これらの事実は、リボゾーム法でアンチセンスを導入しRNase Protection AssayでmRNAを検出した方法でも確認された。

以上の事実よりプロモーター結合蛋白であるAlp145は、IV型コラーゲンの負の転写因子であることが明らかとなった。しかもDNA複製因子Cの構成分子であることから細胞増殖に直接関与するとともに、平滑筋 α アクチンの発現をも制御する可能性が示唆された。Alp145はメサンギウム細胞の分化と増殖を司る鍵となることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究ではラット培養メサンギウム細胞を用いてin vitroにおけるメサンギウム細胞の分化・未分化の制御機転を解明するため、 $\alpha 1$ -IV型コラーゲン (COL4a1) の遺伝子プロモーター領域に対する結合蛋白 (Alp145) の役割について検討した。

細胞は継代を重ねると、COL4a1, 平滑筋 α アクチン (SMA) などの平滑筋細胞形質の発現が減少し、I型コラーゲンの発現や細胞増殖能も亢進して未分化型形質に変化した。Alp145のゲルシフトアッセイで、結合蛋白の発現量は継代とともに増加し、COL4a1のmRNA発現と負の相関を示した。Alp145の機能を検討するためAlp145のAntisense (AS) を未分化型細胞に導入した。するとAlp145の発現が著減し、COL4a1の発現が著増し、またSMAの発現増強とPCNAの発現減少が認められ、分化型細胞形質に誘導された。以上よりAlp145は、COL4a1の負の転写因子であり、細胞増殖やSMAの発現に関与していることが示された。

以上の研究は、メサンギウム細胞の分化と増殖機転の解明に貢献し、糸球体疾患の病因解明に寄与することが期待される。従って、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成11月1月7日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。