

(様式3号)

## 学位論文の要旨

氏名 佐野 宏徳

### 〔題名〕

Establishment of a new conditionally immortalized human skeletal muscle microvascular endothelial cell line

(新たな条件的不死化ヒト骨格筋微小血管内皮細胞株の確立)

### 〔要旨〕

骨格筋において、筋内鞘に存在する微小血管を構成する内皮細胞どうしはタイトジャンクション (tight junction: TJ) を介して密着しており、血液脳関門 (blood-brain barrier: BBB) や血液神経関門 (blood-nerve barrier: BNB) を構成する内皮細胞と類似の生物学的・生化学的性質を有すると想定される。BBBやBNBの領域では多くの知見が明らかとなっているにも関わらず、骨格筋の筋内鞘に存在する微小血管のTJの詳細については十分には理解されていないのが現状である。その要因のうちのひとつに、優れたヒト骨格筋由来の微小血管in vitroモデルが存在していないことが挙げられる。そこで我々はヒト筋微小血管の生物学的、生化学的な特性を理解する目的でヒト骨格筋微小血管内皮細胞株の作成を試みた。ヒト骨格筋から骨格筋微小血管内皮細胞を単離し、温度感受性SV40 large T抗原遺伝子及びヒトテロメラーゼ遺伝子導入した。TSM15と名付けたこの細胞株はバリア構成内皮細胞の特徴である紡錘形の形態を示し、von Willebrand 因子やVEカドヘリンといった血管内皮細胞マーカーを発現していた。また、TSM15は33°Cで40回以上の継代に耐え、37°Cでは増殖を停止し温度感受性を有していた。さらに、TSM15はoccludin, claudin-5, ZO-1などのTJ関連蛋白やMdr1, ABCG2, GLUT-1などのトランスポーターを発現しており、ヒトBBB由来内皮細胞株と同等の電気抵抗値、すなわちバリア機能を有していた。今回樹立したTSM15はヒト骨格筋微小血管内皮細胞の生化学的な機能および生物学的な特性の理解に役立つだけでなく、皮膚筋炎をはじめとする多くの筋疾患の病態解明に役立つツールとなることが期待される。



## 学位論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1504 号	氏 名	佐野 宏徳
論文審査担当者	主査教授	篠田 晃	
	副査教授	池田 栄二	
	副査教授	神田 流	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Establishment of a new conditionally immortalized human skeletal muscle microvascular endothelial cell line (新たな条件的不死化ヒト骨格筋微小血管内皮細胞株の確立)			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Establishment of a new conditionally immortalized human skeletal muscle microvascular endothelial cell line (新たな条件的不死化ヒト骨格筋微小血管内皮細胞株の確立)			
掲載雑誌名 Journal of Cell Physiology.			
第 232 巻 第 12 号 P.3286~3295 (2017 年 4 月 掲載)			
(論文審査の要旨)			
<p>骨格筋において、筋内鞘に存在する微小血管を構成する内皮細胞どうしはタイトジャンクション (tight junction: TJ) を介して密着しており、血液脳関門 (blood-brain barrier: BBB) や血液神経関門 (blood-nerve barrier: BNB) を構成する内皮細胞と類似の生物学的・生化学的性質を有すると想定される。BBB や BNB の領域では多くの知見が明らかとなっているにも関わらず、骨格筋の筋内鞘に存在する微小血管の TJ の詳細については十分には理解されていないのが現状である。その要因のうちのひとつに、優れたヒト骨格筋由来の微小血管 in vitro モデルが存在していないことが挙げられる。そこで我々はヒト筋微小血管の生物学的、生化学的な特性を理解する目的でヒト骨格筋微小血管内皮細胞株の作成を試みた。ヒト骨格筋から骨格筋微小血管内皮細胞を単離し、温度感受性 SV40 large T 抗原遺伝子及びヒトテロメラーゼ遺伝子導入した。TSM15 と名付けたこの細胞株はバリア構成内皮細胞の特徴である紡錘形の形態を示し、von Willebrand 因子や VE カドヘリンといった血管内皮細胞マーカーを発現していた。また、TSM15 は 33°C で 40 回以上の継代に耐え、37°C では増殖を停止し温度感受性を有していた。さらに、TSM15 は occludin, claudin-5, ZO-1 などの TJ 関連蛋白や Mdr1, ABCG2, GLUT-1 などのトランスポーターを発現しており、ヒト BBB 由来内皮細胞株と同等の電気抵抗値、すなわちバリア機能を有していた。</p> <p>本論文は、ヒト筋微小血管内皮細胞株の樹立に初めて成功し、本細胞株はヒト BBB 構成内皮細胞株と共通のバリア関連分子を発現しており、少なくとも内皮細胞同士の比較では BBB 由来内皮細胞株と同等のバリア機能を有していたことを示した論文である。今回樹立した TSM15 は、ヒト骨格筋微小血管内皮細胞の生化学的な機能および生物学的な特性の理解に役立つだけでなく、皮膚筋炎をはじめとする多くの筋疾患の病態解明に役立つツールとなり得るものであり、学位論文として価値のあるものと認めた。</p>			
備考 審査の要旨は 800 字以内とすること。			