

(様式3号)

学位論文の要旨

氏名 内田 智之

〔題名〕

**Endoplasmic reticulum stress promotes nuclear translocation of calmodulin,
which activates phenotypic switching of vascular smooth muscle cells**

(小胞体ストレスがカルモジュリンの核内移行を促進することにより、
血管平滑筋細胞の形質転換を引き起こす)

〔要旨〕

【背景】血管平滑筋細胞 (VSMCs) は細胞傷害や小胞体ストレス下では、分化した形質から未分化へ変化し、増殖能や遊走能を獲得し (形質転換)、動脈硬化巣形成や不安定化に関与する。病的な心肥大モデルの心筋細胞では、小胞体膜上の Ca^{2+} 放出チャンネルであるリアノジン受容体 (RyR) に結合しているカルモジュリン (CaM) が RyR から解離し、核内へ移行することで、心肥大のシグナル (MEF2、NFAT) が活性化されることを報告してきた。VSMCs では、MEF2 の活性化は転写因子 KLF5 の核内発現を誘導し、VSMCs の形質転換を引き起こすとされているが、CaM の核内移行が VSMCs の形質転換に関与しているかどうかを検討した報告はまだない。

【目的】CaM の細胞内動態と CaM の RyR に対する結合親和性を高めるダントロレン (DAN) が小胞体ストレスによる VSMCs の形質転換にどのような役割を果たしているのかを評価した。

【方法】マウスの血管平滑筋培養 (MOVAS) 細胞、小胞体ストレス誘導薬であるツニカマイシン (TM)、さらに DAN を用いて、小胞体内の Ca^{2+} 貯蔵量測定や免疫細胞染色を実施した。また、アテローム性動脈硬化モデルの ApoE ノックアウトマウスを用いて、Oil Red O 染色で DAN の大動脈プラーク量に対する効果を評価した。

【結果】DAN は TM によるアポトーシスや細胞死を抑制した。TM は小胞体内の Ca^{2+} 貯蔵量を減少したが、DAN は小胞体内の Ca^{2+} 貯蔵量を保持し、小胞体ストレス応答マーカーの GRP78 やアポトーシスマーカーの CHOP を抑制した。TM は分化マーカーの SM22 α とカルポニンを抑制し、脱分化マーカーの SMemb を増加させた。さらに TM は、CaM の核内移行を促進し、MEF2-KLF5 経路の活性化に関与しており、DAN が CaM の核内移行を制限することで、MEF2-KLF5 経路を抑制した。また、DAN は ApoE ノックアウトマウスの動脈硬化プラーク形成を抑制した。

【結語】小胞体ストレスは CaM の核内移行を促進し VSMCs の形質転換を引き起こすが、DAN はこれらを抑制した。このことより、CaM の核内移行を制御することが動脈硬化に対する新しい治療戦略となる可能性がある。

作成要領

1. 要旨は、800字以内で、1枚でまとめること。
2. 題名は、和訳を括弧書きで記載すること。

学位論文審査の結果の要旨

令和 5年 2月 15日

報告番号	甲 第 1661 号	氏 名	内田 智之
論文審査担当者	主査教授	朝霧成彦	
	副査教授	宮本達雄	
	副査教授	矢野雅文	
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。)			
Endoplasmic reticulum stress promotes nuclear translocation of calmodulin, which activates phenotypic switching of vascular smooth muscle cells (小胞体ストレスがカルモジュリンの核内移行を促進することにより、血管平滑筋細胞の形質転換を引き起こす)			
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。)			
Endoplasmic reticulum stress promotes nuclear translocation of calmodulin, which activates phenotypic switching of vascular smooth muscle cells (小胞体ストレスがカルモジュリンの核内移行を促進することにより、血管平滑筋細胞の形質転換を引き起こす)			
掲載雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications 第628巻 P.155~162 (2022年8月 掲載)			
著者: Tomoyuki Uchida, Tetsuro Oda, Takeshi Yamamoto, Masako Inamitsu, Chihiro Sakai, Hitoshi Uchinoumi, Takeshi Suetomi, Yoshihide Nakamura, Yoko Okamoto, Satomi Tateda, Shohei Fujii, Shinji Tanaka, Junya Nawata, Takayuki Okamura, Shigeki Kobayashi, Masafumi Yano			
(論文審査の要旨)			
【背景】血管平滑筋細胞 (VSMCs) は細胞傷害や小胞体ストレス下では、分化した形質から未分化へ変化し、増殖能や遊走能を獲得し (形質転換)、動脈硬化巣形成や不安定化に関与する。病的な心肥大モデルの心筋細胞では、小胞体膜上の Ca ²⁺ 放出チャンネルであるリアノジン受容体 (RyR) に結合しているカルモジュリン (CaM) が RyR から解離し、核内へ移行することで、心肥大のシグナル (MEF2、NFAT) が活性化されることを報告してきた。VSMCs では、MEF2 の活性化は転写因子 KLF5 の核内発現を誘導し、VSMCs の形質転換を引き起こすとされているが、CaM の核内移行が VSMCs の形質転換に関与しているかどうかを検討した報告はまだない。			
【目的】CaM の細胞内動態と CaM の RyR に対する結合親和性を高めるダントロレン (DAN) が小胞体ストレスによる VSMCs の形質転換にどのような役割を果たしているのかを評価した。			
【方法】マウスの血管平滑筋培養 (MOVAS) 細胞、小胞体ストレス誘導薬であるツニカマイシン (TM)、さらに DAN を用いて、小胞体内の Ca ²⁺ 貯蔵量測定や免疫細胞染色を実施した。また、アテローム性動脈硬化モデルの ApoE ノックアウトマウスを用いて、Oil Red O 染色で DAN の大動脈プラーク量に対する効果を評価した。			
【結果】DAN は TM によるアポトーシスや細胞死を抑制した。TM は小胞体内の Ca ²⁺ 貯蔵量を減少したが、DAN は小胞体内の Ca ²⁺ 貯蔵量を保持し、小胞体ストレス応答マーカーの GRP78 やアポトーシスマーカーの CHOP を抑制した。TM は分化マーカーの SM22 α とカルボニン を抑制し、脱分化マーカーの SMem β を増加させた。さらに TM は、CaM の核内移行を促進し、MEF2-KLF5 経路の活性化に関与しており、DAN が CaM の核内移行を制限することで、MEF2-KLF5 経路を抑制した。また、DAN は ApoE ノックアウトマウスの動脈硬化プラーク形成を抑制した。			
【結語】小胞体ストレスは CaM の核内移行を促進し VSMCs の形質転換を引き起こすが、DAN はこれらを抑制した。このことにより、CaM の核内移行を制御することが動脈硬化に対する新しい治療戦略となる可能性がある。 本論文は、小胞体ストレスによるカルモジュリンの細胞内動態と血管平滑筋細胞の形質転換について詳細に検討したものであり、学位論文として価値あるものと認めた。(797文字)			