HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	細胞培養系におけるパールカンの多様性［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	中村, 亮介
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第11391号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56093
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Ryosuke_Nakamura_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博　士（農学）　　氏名　中村 亮介

審査担当者　主　査　准教授　福永 重治
副　査　教　授　玖村 朗人
副　査　教　授　中村 富美男
副　査　助　教　小林　謙

学 位 論 文 題 名

細胞培養系におけるパールカンの多様性

本論文は５章からなり、図 56、表 9、文献 209 を含む頁数 165 の和文論文であり、別に参考論文２編が付されている。

基底膜の主要細胞外マトリックス（ECM）成分であるパールカンは、コアタンパク質にヘパラン硫酸鎖が共有結合したプロテオグリカンで、家畜体を構成する上皮、結合、筋、神経の全組織に存在している。また、基底膜成分としてだけではなく間質 ECM として固相および液相にも存在する多様な状態は、産生細胞、分泌された分子の構造および相互作用する他分子の多様性と関連し、種々の生体調節機能を発揮することから様々な活用が期待されている。しかし、多様であるが故に、産生細胞やその組織における機能特性およびパールカンの存在状態による機能傾向さえ把握されていない。そこで本研究では、全四組織に由来する種々の細胞を培養し、タンパク質としての発現と存在状態や外因性および内因性パールカンが培養系で示す機能を検討し、以下の知見を得ている。

1. 神経(神経幹/前駆細胞、ニューロン、アストロサイト)、筋(血管平滑筋、筋芽細胞)、結合(間葉系幹、脂肪前駆、骨芽、軟骨、線維芽細胞)、上皮/内皮(血管内皮、表皮角化、肝細胞）組織由来の細胞が培養系において発現するパールカンおよび他の ECM 成分について免疫学的手法で検討した結果、全細胞がパールカンをタンパク質として産生していた。しかし、その発現様相は由来組織によって異なり、神経組織由来細胞では ECM 成分全般の培地への産出が少なく、細胞層への蓄積も少なかったのに対し、筋および結合組織由来細胞では、パールカンを含む ECM 成分全般の培地への産出と細胞層への蓄積も多い一方で、上皮組織由来細胞はパールカンを培地には産出するものの、細胞層にはあまり蓄積しない傾向が明らかとなった。

2. 外因性固相パールカンは、神経網形成に寄与する神経細胞の神経突起伸長を促進する一方、神経忌避的なグリア性瘢痕形成に繋がるアストロサイトの過剰増殖を抑制した。液相のパールカンでも同様の結果が得られたが、他のECM成分では見られず、パールカン特有の新たな機能と考えられた。

3. ECM産生能が高い筋および結合組織由来の細胞に対して、外因性固相パールカンの作用は他のECMに埋没して特段の機能傾向は示さなかった。しかし、液相のパールカンは、組織修復過程の暫定組織形成に関与する間葉系幹細胞の遊走と増殖を促進し、過剰増殖が線維症化を招く線維芽細胞の増殖は抑制した。また、筋および結合組織由来細胞の正常分化は促進し、血管平滑筋細胞や間葉系幹細胞の脂肪滴蓄積を抑制する結果も得られ、液相パールカンは筋および結合組織の細胞に対し、生体の乱雑な環境における細胞の侵入や増殖を選択的に調節し、正常な分化を促進する秩序形成促進機能があると示唆された。
4. 上皮/内皮組織由来の細胞に対して単独の固相パールカンは、間質 ECM 同様脱分化促進的に機能したが、基底膜関連成分とともに固相化した場合には間質 ECM 様の機能は示さず、パールカンは基底膜構成員として ECM レベルで上皮/内皮の安定化に機能すると推定された。上皮/内皮組織由来細胞の遊走および増殖を促進した液相パールカン特にヘパラン硫酸鎖は、外皮の創傷治癒過程では表皮の再被覆と血管新生の促進に機能すると考えられた。
5. 上記の結果から、パールカンは、組織や器官の混沌が生起する過程では、細胞の侵入と増殖を選択的に促進して乱雑さの増大を抑え、秩序の形成過程では、細胞の過剰を抑制して適切な方向への分化を促進し、組織の安定化と乱雑さの減少に機能する傾向を有することが示唆された。このような機能は、医療においては、虚血などによる神経組織の壊死や、線維症および脂肪組織の過形成などへの利用可能性、すなわち、神経忌避的なグリア性瘢痕の形成を抑制すると共に神経網の形成的に機能する効果、あるいは、血管新生を促進して虚血および慢性炎症、低酸素を改善する一方で、線維症化や脂肪過形成の抑制に有用であることを示唆した。

以上のように本論文は、種々の培養細胞を用いてパールカンの多様性を検討し、タンパク質としての発現の多様性と存在状態および細胞種の由来組織による機能傾向を明らかにしている。特に多機能性に関しては、細胞分化への関与法を含めて生体で発現する機能の俯瞰図を新たに示し、医療等における有効活用の方向性も提案している。よって、審査員一同は、中村 亮介が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。