



Title	Extracellular Laminins distinctively regulate phenotypic expression of PC-12 neuronal cells [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	西浦, まい
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第16448号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/94969
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mai_Nishiura_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 西 浦 ま い

審 査 担 当 者	主査	教授	飯	村	忠	浩
	副査	教授	八	若	保	孝
	副査	教授	網	塚	憲	生

学 位 論 文 題 名

Extracellular Laminins distinctively regulate phenotypic expression of PC-12 neuronal cells

（細胞外ラミニンはPC-12神経細胞の表現型発現を特有に制御する）

審査は、審査担当者全員の出席の下、対面形式で行われた。はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。

以下に論文内容と審査の要旨を述べる。

副腎髄質は、感覚神経、自律神経、グリア細胞群と同様の神経堤由来であり、その主体はクロム親和性細胞（褐色細胞）からなる。クロム親和性細胞は、カテコラミンであるドパミン、アドレナリン、ノルアドレナリンを分泌する。

褐色細胞腫は、副腎髄質のクロム親和性細胞に由来する稀な腫瘍である。罹患患者における交感神経刺激はカテコラミンの過剰分泌を生じ、急激な血圧上昇や頻脈を引き起こすため、歯科治療を含む外科治療時の循環管理に支障をきたす。しかし、その分子病態に基づく治療法は十分に確立されていない。

細胞は、周囲の細胞外マトリックス（ECM）との相互作用を通して、増殖、分化、細胞死などの活性を調節している。ラミニンはECMの主要成分であり、5本の α 鎖、3本の β 鎖、3本の γ 鎖からなる三量体タンパク質複合体である。各ラミニンアイソフォームは組織特異的、発生段階特異的に発現することが明らかになっているが、ラミニンサブタイプが末梢神経サブタイプの調節に関与しているかどうかや、副腎髄質に特異的なラミニンサブタイプが発現しているかどうかはまだ明らかになっていない。

本研究では、褐色細胞腫の分化誘導療法に基づく新たな薬物療法の開発を目的として、ラット副腎髄質の褐色細胞腫から樹立されたPC-12細胞の分化形質発現に対するラミニンサブタイプの影響

を検討した。

まず、副腎髄質に特異的に発現するラミニン α 鎖の同定と、副腎髄質での神経分化マーカーの発現を観察した。7週齢雌性ラットより摘出した副腎の免疫組織染色の結果、副腎髄質でのラミニン α 5鎖、典型的な有糸分裂後の神経細胞マーカーであるNeuNの特異的発現を新たに発見した。

次に、培養ディッシュ非コーティング（対照群）、ラミニン-511コーティング（ラミニン-511群）、ラミニン-221コーティング（ラミニン-221群）の3条件でPC-12細胞を培養し、神経細胞表現型を比較した。ラミニン-511群のPC-12細胞は肥大した円形の細胞体を持ち、Tyrosine Hydroxylase (TH)、Synaptophysinタンパク質の細胞内分布が核周辺のゴルジ体集積領域へ局在が変化したことから、神経分泌細胞の表現型の増強が示された。*Vip*、*Ilf6* 遺伝子発現の上昇や、VIP、Chromogranin A タンパク質の細胞質での発現増加により、クロム親和性細胞の表現型が亢進していることが示された。また、侵害受容ニューロンマーカー*Calca* 遺伝子発現の低下により、感覚神経細胞表現型が抑制されていることが示された。一方、ラミニン-221群では、*Sox2* の低下を除きPC-12細胞の表現型の有意な変化が認められなかった。これらの結果から、ラミニン-511は、PC-12細胞の腫瘍性の脱分化表現型を抑制し、本来のクロム親和性細胞の表現型を回復することが示唆された。

ラミニンサブタイプにより異なる結果を生じた理由として、ラミニン・インテグリン相互作用の特異性はほぼ α 鎖によって規定されている点が考えられた。すなわち、 α 鎖の違いによって、下流のシグナル伝達の強度や他の細胞内シグナルとのクロストークがわずかに異なることで様々な細胞機能を発揮する可能性が考えられた。

上記の論文内容及び関連事項について、以下の質疑応答がなされた。

1. 本研究のようなラミニンが細胞の分化に与える影響についての研究は他に行われているか。
2. ラミニンコーティングを用いた研究を始めた経緯について。
3. ラミニン-511、ラミニン-221の2種類のラミニンコーティング材を選んだ理由は何か。
4. ラミニンコーティング材の操作性の差はあるのか。
5. ラミニン-511コーティング群のPC-12細胞が副腎髄質細胞に分化していることを示す方法として、副腎髄質としての機能を調べる必要があると思うが、それを確かめるための実験手法はどのようなものが考えられるか。
6. 交感神経を刺激するとアドレナリンが分泌されるが、どのように確認するか。
7. 本研究の今後の展望について。

これらの質問に対して、申請者から十分な説明と回答がなされた。申請者の論文は、ラミニン-511が副腎髄質クロム親和性細胞の表現型発現に与える影響について十分検討され、細胞外基質を調節することで特定の神経系譜への分化誘導が可能であることを示すものであり、新たな*ex vivo*での創薬解析系構築につながると評価された。以上により、審査担当者全員が、本研究が学位論文に十分に値し、申請者が博士（歯学）の学位を授与されるに相応しいと認めた。