

論文の内容の要旨

氏名： 陈 兰

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：Increased Complement 3 With Suppression of miR-145 Induces the Synthetic Phenotype in Vascular Smooth Muscle Cells From Spontaneously Hypertensive Rats
(自然発症高血圧ラット由来血管平滑筋細胞は miR-145 の制御により補体 3 発現が増加し合成型形質を示す)

[目的]我々は自然発症高血圧ラット (SHR) 由来血管平滑筋細胞 (VSMC) では補体 3 (C3) の発現が増加し、合成型形質から過剰増殖を示すことを報告してきた。我々は SHR から C3 遺伝子をノックアウトした (C3KO SHR) を作成し、正常血圧 Wistar-Kyoto (WKY) ラット、SHR および C3KO SHR 由来 VSMC において、SHR 由来 VSMC の合成型形質において内因性 C3 の役割について検討した。

[方法] ゲノム編集技術 Zinc-Fingerヌクレアーゼ法で C3KO SHR/Izm を作成した。生後 1 日、8,20 週の WKY/Izm, SHR/Izm, C3KO SHR/Izm 由来大動脈中膜を形質マーカーで染色した。大動脈からエクスプラント法で VSMC を継代培養した。VSMC の収縮性、増殖能、形質マーカー、レニン発現を評価した。各ストレイン由来 VSMC での KLF5, C3 発現に対して miR-145 および miR-143 の発現および役割を各 miRNA の阻害剤を用いて検討した。

[結果]生 1 日後の SHR からの大動脈中膜平滑筋の SMemb 染色は、WKY ラットおよび C3KO SHR より強く既に合成型であった。SHR 由来 VSMC の DNA 合成能は、WKY ラットおよび C3KO SHR に比較して有意に高かった。SHR 由来 VSMC のレニンおよび LXR α の免疫染色は、WKY ラットおよび C3KO SHRs と比較して強かった。SHR 由来 VSMC の Western ブロットでのレニン、KLF5、LXR α 蛋白発現は、WKY ラットおよび C3KO SHRs と比較して有意に高かった。SHR 由来 VSMC では、合成の表現型マーカー osteopontin、matrix gla、および l-caldesmon、増殖因子 TGF- β 1 および PDGF-A、転写調節因子 KLF5 および LXR α 、および angiotensinogen mRNAs の表現は、WKY ラットおよび C3KO SHRs と比較して有意に高かった。更に SHR 由来 VSMC では miR-145 mRNA 発現は、WKY ラットと比較して抑制されており、miR-145 抑制剤は、WKY ラット由来 VSMC で C3 の発現を有意に増加させたが、SHR 由来 VSMC では増加しなかった。

[考察]以上の結果から SHR 由来 VSMC は、miR-145 の抑制により C3 発現が増加し、KLF5 を通して合成型形質を示す。さらに C3 発現増加が LXR α を介してレニン-アンジオテンシン系の活性化をし、SHR での高血圧病態、心血管系の過剰な増殖に関与している事が考えられた。