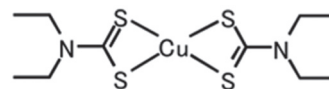


P-044 培養血管平滑筋細胞においてVersican合成を抑制する銅錯体

○山本 千夏¹, 奥山 聡美¹, 入 亮秀¹, 大野木 聡美¹, 小林 祐太¹, 藤江 智也¹,
吉田 映子², 中 寛史³, 鍛冶 利幸²
(¹東邦大・薬, ²東京理大・薬, ³名古屋大・物国セ)

【目的】プロテオグリカン(PGs)はコアタンパク質と呼ばれるタンパク質骨格にグリコサミノグリカン糖鎖を共有結合した構造を有する複合糖質である。血管壁のPGsのほとんどは血管平滑筋細胞に由来し、その分子種は、コンドロイチン硫酸PGsの大型分子種バーシカン、デルマトン硫酸PGsの小型分子種デコリンおよびビグリカン、ならびにヘパラン硫酸PGsの大型分子種パールカンである。このうち、バーシカンにはV0, V1, V2, およびV3の4つのalternative splicing productsが存在する。血管壁PG分子種の比率は動脈硬化病変の進展によって変化する。PGsは多様な機能を有するが、動脈硬化病変の進展に関しては、バーシカンV0/V1が促進的に働き、デコリンが抑制的に働くことが知られている。しかしながら、これらのPG分子種の合成調節機構については不明な点が多い。我々は有機-無機ハイブリッド分子を活用するバイオロジー (バイオオルガノメタリクス)を展開している。その中で、銅錯体Cu10 (右図)が血管内皮細胞において多様な活性を示すことがわかった。本研究では、血管平滑筋細胞のPG合成に対するCu10の活性について検討した。



【方法】ウシ血管平滑筋細胞をコンフルエントまで培養後、Cu10存在下、^[35S]硫酸でプロテオグリカン糖鎖を代謝標識し、細胞層と培地に蓄積したPGsの特性について、糖鎖への^[35S]硫酸の取り込みをCPC沈殿法で、hydrodynamic sizeに基づく分離をSephacel CL-4Bで、荷電密度に基づく分離をDEAE-Sephacel陰イオン交換クロマトグラフィーで、糖鎖の伸張をSephacel CL-6Bで解析した。別に、PGコアタンパク質をwestern blotで、遺伝子発現をReal time RT-PCRで分析した。

【結果および考察】細胞層および培地への^[35S]硫酸標識PGsの蓄積は、Cu10によって濃度依存的に減少した。^[35S]硫酸標識PGsをSephacel CL-4Bでゲルろ過したところ、細胞層では低分子量型PGサブクラスが減少しており、培地では高分子量型PGサブクラスが減少していた。それぞれのサブクラスをDEAE-Sephacelで生成したところ、高分子量型PGサブクラスは0.5 M NaClで、低分子量型PGサブクラスは0.45 M NaClで溶出される単一のピークとして検出された。Sephacel CL-6Bによる分析の結果、両サブクラスはコンドロイチン/デルマトン硫酸糖鎖を結合していることが示されたが、Cu10は糖鎖の長さに影響を及ぼさなかった。Western blot分析の結果、Cu10は、(1)バーシカンV0/V1バリエーションの培地への蓄積を減少させ、(2)デコリンの特に細胞層への蓄積を減少させ、(3)ビグリカンの培地への蓄積を減少させた。Real time RT-PCRの結果、Cu10はV0/V1バリエーションおよびデコリンのmRNAの発現を低下させたが、特にV0/V1バリエーションに対して顕著な抑制活性を示した。以上の結果から、Cu10が血管平滑筋細胞において、バーシカンV0/V1バリエーションの合成を顕著に抑制して培地への蓄積量を減少させ、デコリンについては合成を抑制して細胞層への蓄積を減少させるが、コンドロイチン/デルマトン硫酸糖鎖の慎重には影響を及ぼさないことが明らかになった。Cu10は特にバーシカンV0/V1バリエーションおよびデコリンのコアタンパク質の合成調節機構やこの2つの分子種の細胞層への付着機構を解析するツールとして有用であると考えられる。

A copper complex that suppresses versican synthesis in vascular smooth muscle cells in culture

○Chika Yamamoto¹, Satomi Okuyama¹, Akihide Hairu¹, Satomi Onogi¹, Yuta Kobayashi¹, Tomoya Fujie¹, Eiko Yoshida², Hiroshi Naka³, Toshiyuki Kaji² (¹Fac. of Pharm. Sci., Toho Univ., ²Fac. of Pharm. Sci., Tokyo Univ. of Sci., ³Res. Center Mater. Sci., Nagoya Univ.)

We found out a copper complex that strongly suppresses the synthesis of a large chondroitin sulfate proteoglycan—versican—and a small leucine-rich dermatan sulfate proteoglycan—decorin—in cultured vascular smooth muscle cells.