



## Phenotypic characterization of perivascular myoid cell neoplasms, using myosin 1B, a newly identified human pericyte marker

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2018-05-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 目黒, 史織 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/3336">http://hdl.handle.net/10271/3336</a>

博士(医学) 目黒 史織

## 論文題目

Phenotypic characterization of perivascular myoid cell neoplasms, using myosin 1B, a newly identified human pericyte marker

(新たに同定されたヒト周皮細胞マーカーmyosin 1Bを用いた血管周囲性腫瘍の表現型解析)

## 論文の内容の要旨

### [はじめに]

周皮細胞は、微小血管(毛細血管と毛細血管後細静脈)の血管内皮を外側から取り巻く血管壁細胞で、微小血管よりも径の大きな血管の血管壁細胞である血管平滑筋細胞に相当する。電子顕微鏡による超微形態の観察では、周皮細胞と血管平滑筋細胞は共通の特徴を有しているが、周皮細胞は暗調小体を欠き、筋線維も少ない。周皮細胞に発現するタンパク質はいくつか知られているが、ホルマリン固定・パラフィン包埋ヒト組織における周皮細胞マーカーは見出されていない。ホルマリン固定・パラフィン包埋ヒト組織における周皮細胞マーカーは、周皮細胞と疾患との関連性の解明に役立つと考えられる。例えば、皮膚・軟部腫瘍の「血管周囲性腫瘍」というカテゴリーは、形態学的にグロームス腫瘍、血管平滑筋腫および筋周皮腫などに分類されているが、これらの腫瘍細胞がどの程度周皮細胞の特徴を有しているのかはよくわかっていない。

本研究の目的は、ホルマリン固定・パラフィン包埋ヒト組織に用いることのできる周皮細胞マーカーを同定すること、および同定されたマーカーを用いて血管周囲性腫瘍の特徴づけを行うことである。

### [材料ならびに方法]

Neuroglial antigen 2 (NG2) (マウスの周皮細胞と血管平滑筋細胞に発現する)のプロモーター下流に *DsRed* 遺伝子が挿入されている *NG2DsRed* トランスジェニックマウスの肺から lineage マーカー陰性 NG2 陽性 CD146 陽性 ( $\text{lin}^{\text{neg}}\text{NG2}^{\text{pos}}\text{CD146}^{\text{pos}}$ ) の周皮細胞と、正常マウスの肺から  $\text{lin}^{\text{neg}}\text{CD146}^{\text{neg}}\text{Sca-1}^{\text{pos}}$  の線維芽細胞をフローサイトメトリーによって取り出した。それらの細胞から抽出した mRNA と、大動脈(血管平滑筋細胞)の mRNA を増幅し、マイクロアレイを用いて遺伝子発現プロファイルを比較し、qRT-PCR を行うことによって、周皮細胞に強く発現している複数の遺伝子を同定した。

そして、免疫組織化学染色を行い、ホルマリン固定・パラフィン包埋ヒト皮膚の毛細血管の周皮細胞に発現する周皮細胞マーカーを同定した。さらに、血管周囲性腫瘍 54 例(血管平滑筋腫 28 例、グロームス腫瘍 23 例、筋周皮腫 3 例)の手術材料において、血管平滑筋細胞のマーカーである high-molecular weight caldesmon (h-CD) と周皮細胞マーカーの発現を免疫組織化学染色によって検討した。

本研究は浜松医科大学動物実験委員会 (No. 2015008) および院内倫理委員会 (No. 14-366) の承認を得ている。

### [結果]

周皮細胞、血管平滑筋細胞および線維芽細胞の遺伝子発現プロファイルを比較し、

さらに qRT-PCR を行った結果、15 個の遺伝子が周皮細胞マーカー候補として選り出された。その候補の中で、myosin 1B (MYO1B) がヒト皮膚毛細血管の周皮細胞に発現することを免疫組織化学染色で確認した。

ヒト皮膚において、抗 MYO1B 抗体と抗 h-CD 抗体を用いた免疫組織化学染色を行ったところ、毛細血管と細静脈の周皮細胞は MYO1B<sup>+</sup>h-CD<sup>-</sup>、細動脈の血管壁細胞は MYO1B<sup>+</sup>h-CD<sup>+</sup>、細動静脈より径の大きい動静脈の血管平滑筋細胞は MYO1B<sup>-</sup>h-CD<sup>+</sup>という表現型であった。

次に、血管周囲性腫瘍 54 例において、抗 MYO1B 抗体と抗 h-CD 抗体を用いた免疫組織化学染色を行った。血管平滑筋腫は主に MYO1B<sup>-</sup>h-CD<sup>+</sup>の血管平滑筋細胞から構成されていた。グロームス腫瘍は主に MYO1B<sup>+</sup>h-CD<sup>+</sup>の血管壁細胞で構成され、MYO1B<sup>+</sup>h-CD<sup>-</sup>の周皮細胞および MYO1B<sup>-</sup>h-CD<sup>+</sup>の血管平滑筋細胞が様々な割合で混在していた。筋周皮腫 3 例のうち 2 例では MYO1B<sup>-</sup>h-CD<sup>+</sup>の血管平滑筋細胞と MYO1B<sup>+</sup>h-CD<sup>+</sup>の血管壁細胞が混在していたが、1 例ではほとんど MYO1B<sup>-</sup>h-CD<sup>+</sup>の血管平滑筋細胞から構成され、血管平滑筋腫に類似した発現パターンであった。

#### [考察]

周皮細胞マーカー MYO1B と平滑筋マーカー h-CD を組み合わせることで、血管壁細胞は MYO1B<sup>+</sup>h-CD<sup>-</sup>の周皮細胞、MYO1B<sup>-</sup>h-CD<sup>+</sup>の血管平滑筋細胞および周皮細胞と血管平滑筋細胞の中間的な細胞と考えられる MYO1B<sup>+</sup>h-CD<sup>+</sup>の血管壁細胞に分類される。血管平滑筋腫は主に MYO1B<sup>-</sup>h-CD<sup>+</sup>の腫瘍細胞から構成されていたので、細動静脈より径の太い動静脈の平滑筋細胞由来と考えられる。グロームス腫瘍は主に MYO1B<sup>+</sup>h-CD<sup>+</sup>の腫瘍細胞から構成されており、MYO1B<sup>+</sup>h-CD<sup>+</sup>の血管壁細胞から発生すると考えられるが、MYO1B<sup>+</sup>h-CD<sup>-</sup>の周皮細胞や MYO1B<sup>-</sup>h-CD<sup>+</sup>の血管平滑筋細胞の特徴を有する細胞にも分化することが示唆される。筋周皮腫と血管平滑筋腫は形態学的に連続性があり、しばしば両者の鑑別が難しい症例が存在するが、免疫組織化学的にも筋周皮腫の中には血管平滑筋腫に類似した形質を示す症例が存在することがわかった。今回検討した筋周皮腫は 3 例と少数であり、筋周皮腫の診断目的に MYO1B が有用であるかは、より多数の症例での検討が必要である。

#### [結論]

新規の周皮細胞マーカーとして MYO1B を同定した。MYO1B は血管周囲性腫瘍の発生母地や分化を理解する上で、有用なマーカーとなり得る。