

学位論文の要旨

| | | | |
|--|----|----|------|
| 学位の種類 | 博士 | 氏名 | 油川陽子 |
| 学位論文題目 | | | |
| The Role of Prostacyclin System of Endothelial Progenitor Cells in Peripheral Ischemia (末梢虚血障害修復機構における内皮前駆細胞内在性 プロスタサイクリンシステムの役割) | | | |
| 共著者名 | | | |
| 川辺淳一，菅野貴康，田代直彦，佐々木高明，奥村俊介，岡田 基，結城幸一， 牛首文隆，長谷部直幸 | | | |
| 未公表 | | | |
| 研究目的 | | | |
| <p>プロスタサイクリン(PGI₂)は、血小板や血管壁構成細胞への効果を介した強力な抗動脈硬化作用をもつプロスタノイドとして知られている [1]。また一方各種の虚血病態において、骨髓由来単核細胞(MNC)あるいは内皮前駆細胞(EPC)が、血管新生などを介して虚血障害からの組織修復作用をもつことが知られている [2]。最近、PGI₂がEPCを用いた細胞治療による血管新生を促進させる作用が報告されている [3]。しかし、EPCによる虚血組織修復作用において、PGI₂がどのような役割を果たすのか、またその機序の詳細は不明な点が多い。そこで、我々はEPC自体の細胞機能にPGI₂が影響を及ぼし、結果として臓器虚血に対して保護的に働いているという仮説を立て、その検証を試みた。</p> | | | |
| 材料・方法 | | | |
| <p>1. 動物 8-10週齢雄性のC57BL/6 wild-type (WT)マウスとPGI₂特異的レセプターであるIPを欠損させた(IP^{-/-})マウスを用いた。</p> <p>2. 機能性EPCの評価 末梢血および骨髓細胞中のEPCを細胞表面マーカー、cKit、Flk1+、Sca1マーカー陽性細胞としてフローサイトメトリーを用いて同定した。また、機能性EPCは、骨髓もしくは末梢血から濃度勾配遠心法で分離したMNCを、EPC用培養条件下で培養し、Dil-acetylLDL吸収能とFITCレクチン結合能で同定した。</p> <p>3. EPCの分離 骨髓MNCからMagnet Sorting System (Milteny Biotec) を用いてEPCを</p> | | | |

4. Hind-Limb Ischemiaにおける末梢四肢血流量におよぼすIPの役割

下肢虚血モデルにおける末梢下肢血流量は、術後2日目では、WTおよびIP^{-/-}マウス両群で差を認めなかったが、7日目以降ではIP^{-/-}マウスにおいて有意な低値を認めた。術後14日目ではWTに比べIP^{-/-}マウスで37%低値を示した。さらに、骨髄選択的にIP欠損させた（IP^{-/-}骨髄移植マウス）においても、WT骨髄移植マウスに比べ、末梢下肢血流量は32%低値を示した。

考 案 及 び 結 論

我々は、骨髄由来の細胞の中で、EPCが特異的にIPを発現している細胞であり、血管新生を誘発する多くのサイトカインや増殖因子の産生にPGI₂系が重要な働きをもつことを明らかにした。さらに、骨髄移植により作成した骨髄内のIP欠損マウス（=すなわち、末梢血管におけるIP発現は正常）のHind-Limb Ischemiaモデルで、末梢血流が著明に低下することを初めて明らかにし、骨髄内のPGI₂系が、末梢血管への作用以外に、末梢虚血後の血流維持機構において重要な役割を果たすことを示した。

末梢虚血臓器における血管新生は、臓器保護のために重要な役割のひとつである。本研究で見出したEPCからの血管新生サイトカイン産生能低下は、虚血臓器における血管新生の抑制さらに血流低下をもたらすと推測される。今後、骨髄IP欠損によるHind-Limb Ischemiaモデルでの血流低下の機序解明のために、末梢組織での血管新生の低下があるのか（病理学的解析）、あるいは、正常EPCを補充することにより、血流低下が改善するのか（EPCレスキュー実験）などの検証が必要である。

今回、見出したEPCを標的としたPGI₂の新しい作用は、各種の虚血性疾患における病態解明、さらには新しい治療開発にも繋がるものと思われる。

引 用 文 献

- 1, Narumiya, S., Y. Sugimoto, and F. Ushikubi, Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiol Rev*, 1999. 79(4): p. 1193-226.
- 2, Asahara, T., et al., Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 1997. 275(5302): p. 964-7.
- 3, Otsuka, H., et al., The prostacyclin analog beraprost sodium augments the efficacy of therapeutic angiogenesis induced by autologous bone marrow cells. *Ann Vasc Surg*, 2006. 20(5): p. 646-52.

参 考 論 文

- 1, MPO-ANCA陽性で両側感音性難聴と頭痛をきたした一例

油川 陽子, 片山 隆行, 榎本(中谷) 雪 ほか
臨床雑誌 内科 101巻4号 2008年 掲載予定

学位論文の審査結果の要旨

| | | | |
|---|--------|-----|-------|
| 報告番号 | 第 号 | | |
| 学位の種類 | 博士(医学) | 氏 名 | 油川 陽子 |
| <u>審査委員長</u> 牛首文隆 ㊞ | | | |
| <u>審査委員</u> 稲葉雅史 ㊞ | | | |
| <u>審査委員</u> 長谷部直幸 ㊞ | | | |
| 学位論文題目 | | | |
| The role of prostacyclin system of endothelial progenitor cells in peripheral ischemia (末梢虚血傷害修復機構における内皮前駆細胞内在性プロスタサイクリンシステムの役割) 廣 | | | |
| | | | |

プロスタサイクリンは、血管拡張作用や抗動脈硬化作用を示すプロスタノイドである。また最近、プロスタサイクリン関連薬物の血管新生促進作用が報告されている。しかし、その作用機構は不明である。

本研究では、プロスタサイクリンの血管内皮前駆細胞（EPC）に対する作用を解析し、その虚血後末梢循環改善における効果を検討した。骨髄単核細胞の中で、EPC はプロスタサイクリン受容体 IP を豊富に発現していた。また、末梢血および骨髄での機能的 EPC 数は、IP 欠損マウスで有意に減少していた。さらに、IP アゴニストは、EPC による血管新生関連サイトカインなどの産生を促進した。一方、下肢虚血モデルにおける血流改善の程度は、骨髄選択的 IP 欠損マウスで有意に低下していた。

本研究の結果、プロスタサイクリンは、EPC 機能を調節していることが明らかとなった。また、この作用が虚血後末梢循環改善に重要な役割を果たすことが示された。この結果は、プロスタサイクリンの末梢循環改善効果における新規作用機序を明らかにした点に意義があるとともに、その臨床応用が期待される。

なお、論文提出者に対し各審査委員より、本論文とその関連領域に関して試問が行われ、適切な回答が得られた。

以上より、本論文は博士の学位論文として適切であると判定した。