

学 位 論 文 要 旨

氏 名 井上 葉子



論 文 題 目

「Roles of regulatory T cells in enhancement of
angiogenesis in a sponge implantation model」

(スポンジ移植モデルでの血管新生促進における
制御性 T 細胞の役割)

指 導 教 授 承 認 印

浅 利 清



「Roles of regulatory T cells in enhancement of angiogenesis in a sponge implantation model」

(スポンジ移植モデルでの血管新生促進における
制御性 T 細胞の役割)

氏 名 井上 葉子

【背景と目的】

血管新生は、いくつかの生理学的/病理学的事象に関与する過程である。血管新生の主要な役割は血管内皮細胞が担っているが、マクロファージや線維芽細胞などの非内皮細胞成分もまた、*in vivo* で血管新生を制御する。本研究では、我々は、血管新生を定量的に決定することができるスポンジ移植モデルを使用し、制御性 T 細胞 (Tregs) が *in vivo* で血管新生を増強するか否かを明らかにする。さらに、我々は、シクロオキシゲナーゼによって生成されたプロスタグランジン (PG) が、血管新生部位における Tregs の誘導を介して血管新生を増強することができるものか否かを検討する。

【方法】

6 週令の C57 BL/6N の雄マウスの背部皮下に滅菌したスポンジディスクを移植しモデルを作製した。そのモデルマウスに、①CD25 抗体の 7 日に 1 回の腹腔内投与 (10 mg/kg 体重) を行い、対照群には生理食塩水投与を行った。②アスピリンの連日経口投与 (100 mg/kg 体重) を 7 日間または 14 日間についてそれぞれ行った。アスピリン投与には、アスピリン微粉末を混入させたアラビアゴム懸濁生理食塩水を経口投与したので、vehicle 群はアラビアゴム懸濁生理食塩水を用いた。

上記の二種の投与実験について、7 日または 14 日後、肉芽が増殖したスポンジを剥離し秤量とスポンジ内滲出液中の血管内皮増殖因子 (VEGF) 定量 (ELISA 法) を行った。スポンジを二分し、病理組織標本作製および PCR 定量に用いた。病理組織標本の免疫組織化学染色では CD31 抗体 (PECAM ; platelet endothelial cell adhesion molecule-1) にて血管内皮細胞を特異的に染め、新生血管数を計測し、ソフトウェアを用いて新生血管断面積を計測した。Tregs の発現量を示すマスター転写

因子 Foxp3 の免疫組織化学染色により、Tregs の個数を顕微鏡写真より計測した。VEGF、トランスフォーミング増殖因子 (TGF- β)、についても免疫組織化学染色を行い観察した。また、定量的 PCR にて CD31、Foxp3、TGF- β 、VEGF、GAPDH を定量した。

【結果】

①マウスの CD25 中和抗体による処理は、対照群と比較して、肉芽形成および CD31⁺構造を減少させた。CD31⁺血管腔は、14 日目に CD25 中和抗体で処置したマウスの切片において有意に低かった。CD31 mRNA レベルは一時的に増加したが、CD25 中和抗体の腹腔内投与は、14 日目に 70%に発現レベルを低下させた。肉芽組織に補充された Foxp3⁺制御性 T 細胞は、7 日目および 14 日目に CD25 中和抗体で著しく減少し、VEGF および TGF- β の発現も有意に減少した。

②アスピリン処理は、Foxp3⁺制御性 T 細胞の造血組織への集積を減少させ、血管新生を減少させた。これらの減少は、VEGF および TGF- β の発現の有意な減少を伴った。

【考察とまとめ】

以上の結果から、VEGF の誘導を介して Tregs が補充され、血管新生が形成されることと並行して、Tregs より放出される TGF- β によって血管新生が制御されるという作用機序のもと、血管新生増殖作用に Tregs が関与していることが示唆された。アスピリンの抗炎症作用等に関する Tregs の動向の一連の検査結果から、PG が血管新生部位における Tregs の誘導を介して血管新生を増強することを明らかにした。

本研究は、Tregs がスポンジモデルにおいて血管新生促進活性を有し、病的状態において血管新生を制御する標的細胞であることを示唆した。