

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1085 号	氏 名	羨 鮮
論文審査担当者	主 査 菅野 祐幸 副 査 多田 剛 ・ 田淵 克彦		

(論文審査の結果の要旨)

アドレノメデュリン(AM)は多彩な生理活性を有するペプチドである。AM およびそのファミリー因子はカルシトニン受容体様受容体 (CLR) を介して作用する。CLR のリガンドに対する特異性は、受容体活性調節タンパク質によって決定され、受容体活性修飾タンパク質 RAMP2 が、AM の血管新生作用の重要な規定因子であることを明らかとしてきた。一方で、AM-RAMP2 系の抗動脈硬化作用への関与は明らかではない。

そこで羨鮮は、本研究では RAMP2 ヘテロノックアウトマウス (RAMP2^{-/-}) を用い、ワイヤー血管内膜傷害モデルを作成した。AM-RAMP2 系の遺伝子発現の解析、EVG 染色で新生内膜形成を解析、CD31 と α -SMA の二重免疫染色で血管内腔再内皮化と平滑筋細胞増殖を解析、F4/80 免疫染色で傷害部位のマクロファージ浸潤を解析、炎症性サイトカインの遺伝子発現の解析、NADPH oxidase の発現と酸化ストレスレベルの解析を行なった。次に誘導型血管内皮細胞特異的 RAMP2^{-/-}マウス (DI-E-RAMP2^{-/-}) を用いて、ワイヤー傷害を加え、新生内膜形成を解析、血管内腔再内皮化と平滑筋細胞増殖を解析、傷害部位のマクロファージ浸潤を解析、炎症性サイトカインの遺伝子発現を解析、酸化ストレスレベルの解析を行なった。次に、RAMP2^{+/+}と野生型マウス、または DI-E-RAMP2^{-/-}とコントロールマウスから採取した骨髄細胞を、放射線照射したレシピエントマウスに移植し、血管傷害を加えて新生内膜形成を検討した。最後に *in vitro* の系において、DI-E-RAMP2^{-/-}およびコントロールマウスの骨髄から EPC を初代培養して、細胞の性質の解析を行なった。末梢血由来のヒト EPC (hEPC) を用い、AM 投与による細胞増殖とマトリゲル内での管腔形成の解析を行なった。

その結果、羨鮮は次の結論を得た。

1. RAMP2^{+/+}マウスでは、wire injury 後の血管内膜の修復が障害されて、炎症や酸化ストレスが亢進し、平滑筋細胞増殖に関係している可能性が考えられた。
2. DI-E-RAMP2^{-/-}マウスでは、傷害後の血管内皮の修復が障害されて、炎症や酸化ストレスが亢進し、平滑筋細胞増殖に関係している可能性が考えられた。
3. 骨髄移植とワイヤー血管傷害実験の結果によって、RAMP2^{+/+}あるいは DI-E-RAMP2^{-/-}の骨髄を移植したレシピエントマウスでは、新生内膜の形成が各々のコントロールと比較して亢進しており、平滑筋細胞の増殖亢進と、再内皮化の抑制が認められた。
4. マウスの骨髄から EPC を初代培養し、28 日後、DI-E-RAMP2^{-/-}はコントロールに比較して、DiI-Ac-LDL および BS-1 lectin の二重陽性を示す EPC の数が低下していた。
5. 臍帯血由来のヒト EPC (hEPC) では、AM、RAMP2 および CLR の発現が確認され、AM は濃度依存的に hEPC の増殖を亢進した。さらに AM 投与によって、hEPC のマトリゲル内での管腔形成は有意に亢進した。

以上の結果から、羨鮮は、AM-RAMP2 系は、抗炎症作用、酸化ストレス抑制により、新生内膜形成を抑制し、血管保護作用を持つことを示した。また、AM-RAMP2 系は EPC の増殖と遊走を制御して再内皮化を改善することを示した。AM-RAMP2 系は動脈硬化や再狭窄に対する新たな治療標的として期待される。

よって、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。

