

## 論文の内容の要旨

氏名：後 藤 俊 平

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：マウス脱分化脂肪細胞のペリサイト分化メカニズム

### 【背景・目的】

成熟脂肪細胞から調製される脱分化脂肪細胞（dedifferentiated fat cell: DFAT）は、高い血管新生能を有し、そのメカニズムの一つとして DFAT が血管構成細胞であるペリサイトへ直接分化することが推定されている。本研究では、主に血管内皮細胞との共培養系を用いて DFAT のペリサイトへの分化メカニズムについて検討を行った。

### 【方法】

DsRed 標識マウス血管内皮細胞株 MS1 と GFP マウス皮下脂肪由来 DFAT を付着させたコラーゲンビーズをコラーゲンゲル内で培養し、誘導される管腔様構造を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。GFP 標識 DFAT と MS1 とを直接または間接共培養を行い、ペリサイトマーカーである NG2 と平滑筋  $\alpha$  アクチン(ASMA)の発現を、蛍光免疫染色およびリアルタイム RT-PCR 法にて定量評価した。同時に共培養による両細胞からの transforming growth factor- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1) mRNA 発現変化を検討した。また DFAT に各種濃度の TGF- $\beta$ 1(1~50ng/ml)を添加し、NG2 と ASMA の発現を同様に検討した。さらに MS1 との共培養および TGF- $\beta$ 1 刺激による DFAT からの NG2 および ASMA 発現に対する Smad2/3 阻害剤 PD169316(5 $\mu$ M)または TGF- $\beta$ 1 中和抗体(25 $\mu$ g/ml)の影響を検討した。

### 【結果】

コラーゲンゲル内共培養実験では、DFAT は MS1 とともにゲル内に遊走し、MS1 の管腔形成の外側を裏打ちする所見が認められた。共培養によるペリサイトマーカーの発現解析では、DFAT からの NG2、ASMA の発現は、MS1 との直接・間接共培養により有意 ( $p<0.05$ ) に増加した。一方共培養による MS1 からの NG2、ASMA 発現増加は認められなかった。DFAT および MS1 からの TGF- $\beta$ 1 発現も直接・間接共培養により有意 ( $p<0.05$ ) に増加した。TGF- $\beta$ 1 添加による DFAT からのペリサイトマーカー発現解析では、NG2、ASMA とともに、TGF- $\beta$ 1 濃度が 1 ng/ml から発現が有意 ( $p<0.05$ ) に増加した。TGF- $\beta$ 1 刺激により誘導された NG2、ASMA 発現は、PD169316 添加にて著明に抑制された。MS1 との共培養により誘導された NG2 発現も、PD169316 または TGF- $\beta$ 1 中和抗体添加にて有意 ( $p<0.05$ ) に抑制されたが、その抑制効果は TGF- $\beta$ 1 刺激に比べ限定的であった。

### 【結論】

DFAT は血管内皮細胞との相互作用により、ペリサイトへ分化することが示唆された。その分化メカニズムとして、TGF- $\beta$ 1 刺激を介した Smad2/3 シグナル伝達経路が重要であることが明らかになった。