

## 血管平滑筋の再生メカニズムの解明：損傷に伴い出現する増殖細胞は幹細胞由来か

西村(佐田)亜衣子, Karina Ramirez, 柳沢裕美

筑波大学生命領域学際研究センター

### 【研究の背景】

血管は、内腔を覆う内皮細胞と、その周囲を裏打ちし、血管構造の維持や弛緩収縮を担う平滑筋細胞、外膜の線維芽細胞から構成される。成体の平滑筋細胞は、細胞周期の静止期にあるが、血管損傷などの刺激により、形質転換(脱分化)が誘導され、増殖能を獲得する。これは、損傷に対する適応現象の一つだが、一方で動脈硬化や再狭窄の原因ともなる。従って、血管損傷への平滑筋細胞の応答メカニズムを正しく理解し、平滑筋細胞の増殖・分化を的確に制御することが、健康な血管組織を維持する上での課題となっている。

近年、従来のモデルに反して、血管損傷に伴い出現する増殖型平滑筋細胞は、血管壁に存在する幹・前駆細胞に由来する説が提唱されるようになった。特に、血管の外膜と中膜との境界領域は、血管再生域と呼ばれ、幹・前駆細胞が集中する特別なニッチと考えられている。しかし、*in vivo*で幹細胞能力を検証するためのツールがほとんど存在しないため、血管壁幹・前駆細胞の実態には不明な点が多い。

### 【目 的】

本研究は、血管壁に局在する異なる細胞集団を標識するツールを確立し、損傷・ストレス下で、細胞の挙動を解析する。

### 【方 法】

新規に同定したタモキシフェン誘導型の Cre (CreER) と、Cre レポーター Rosa-tdTomato を持つ二重トランスジェニックマウスを作成した。このマウスにタモキシフェンを投与することで、細胞が蛍光標識される。導入した標識は子孫細胞に受け継がれるため、細胞の細胞運命を追跡することができる。タモキシフェン投与 1 日後、① Transverse Aortic Constriction (メカニカルストレスによる血管壁の肥厚)、または② 総頸動脈結紮(損傷による平滑筋細胞の再生)を行い、標識された細胞の挙動を観察した。

### 【結 果】

#### 1) 外膜細胞とその近傍の平滑筋細胞を標識する PDGFR $\alpha$ -CreER マウス

我々は、他の組織において幹細胞マーカーや線維芽細胞マーカーとして知られる遺伝子群の免疫染色を行い、PDGFR $\alpha$  タンパク質が外膜細胞で特異的に発現することを見出した。PDGFR $\alpha$ -CreER マウス<sup>1)</sup>においては、外膜細胞とその近傍の平滑筋細胞で蛍光標識が観察された。このツールを用い、損傷・ストレス実験を行ったところ、PDGFR $\alpha$  陽性細胞は、外膜の増殖には顕著に寄与するが、総頸動脈結紮に反応した新生内膜形成(平滑筋細胞の再生)には寄与しなかった。

#### 2) 血管内腔に近い平滑筋細胞を標識する低酸素レポーターマウス(CAG-ODD-CreER)

血管と同様、成体ではほとんど増殖が見られない心臓において、低酸素環境にある少数の細胞が増殖・分化能を保持し、心筋細胞の産生に寄与することが近年報告された<sup>2)</sup>。また低酸素環境は、他の様々な組織で、がん細胞の増殖や幹細胞ニッチと密接に関わる。以上のことから、私は、成体血管壁においても、低酸素状態にある細胞は、増殖能を保持した特別な細胞集団であるのではないかと考えた。本研究では、成体血管壁において、低酸素レポーターマウス(CAG-ODD-CreER)

を用い、低酸素状態にある細胞を可視化したところ、血管の内腔に近い平滑筋細胞が標識されることを見出した。

### 【考 察】

PDGFR $\alpha$ -CreER で標識される外膜の細胞やその近傍の平滑筋細胞は、損傷に伴う新生内膜形成に寄与しなかった。すなわち、従来のモデルで提唱されている平滑筋細胞、新しいモデルで提唱されている外膜細胞のどちらも平滑筋再生に寄与しないという予想外の結果である。可能性としては、平滑筋細胞に何らかの不均一性があり、PDGFR $\alpha$ -CreER で標識されない平滑筋細胞のサブポピュレーションが、再生能を持つ特別な集団であることが考えられる。我々は、血管のより内腔に位置する低酸素レポーター陽性の平滑筋集団を同定している。今後は引き続き、この細胞の挙動を解析することで、平滑筋細胞の不均一性によって細胞の挙動や応答性が異なる可能性を検討する。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究で得られる成果は、血管再生や病変の過程を理解する上での重要な基盤となると共に、幹細胞を用いた人工血管の構築等、再生医療への発展も期待される。

### 【参考・引用文献】

1. Miwa, H. and T. Era, Generation and characterization of PDGFR $\alpha$ -GFPCreERT2 knock-In mouse line. *Genesis*, 2015, 53(5): 329-36.
2. Kimura, W., et al., Hypoxia fate mapping identifies cycling cardiomyocytes in the adult heart. *Nature*, 2015, 523(7559): 226-30.