

学位論文抄録

血管内皮細胞形態制御における Foxo1 と Foxo3 の機能差異
(Functional disparity of Foxo1 and Foxo3 in the regulation of endothelial cell morphology)

松川 舞

指導教員

小川 峰太郎 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程 医学専攻 組織幹細胞学

川筋 道雄 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程 医学専攻 心臓血管外科学

学位論文抄録

[目的] Foxo1は、フォークヘッドボックス転写因子であるFoxoサブファミリーのメンバーであり、マウスの胚において正常な血管発達に必須であることが知られている。Foxo1遺伝子欠損マウスは、血管発生の異常によって胎生致死となる。この血管発生異常では、血管径の拡張などがみられ、TGF- β シグナル経路の欠損時と類似した表現型を示す。そして、Foxo1欠損胚性幹細胞(ES細胞)由来の血管内皮細胞は、VEGF-Aに対する形態反応の異常を示し、細胞伸長がみられない。しかしながら、血管新生刺激下での血管内皮細胞形態を制御する仕組みは、いまだ知られていない。一方、他のFoxoサブファミリー(Foxo3、Foxo4)の欠損マウスは、血管形成異常を認めずに出生する。そこで本研究では、血管内皮細胞は、VEGF-Aと同様にTGF- β に対しても、Foxo1依存的な形態反応を引き起こすのか検討した。また、血管内皮細胞の形態反応における、Foxo1とFoxo3の機能的相違性を調べることにした。

[方法] 血管内皮細胞の分化初期段階から血管形成過程を検討するために、ES細胞の*in vitro*分化誘導系を用いた。野生型血管内皮細胞とFoxo1欠損血管内皮細胞にVEGF-AまたはTGF- β を添加し、形態変化を調べた。さらにTet-Offシステムを用いて、Foxo1またはFoxo3遺伝子の発現を任意に誘導できるFoxo1欠損ES細胞を樹立し、血管内皮細胞におけるFoxo1とFoxo3の働きを比較検討した。

[結果] 野生型ES細胞由来の血管内皮細胞は、TGF- β によって、VEGF-Aと同様の細胞伸長反応を示した。そして培養系に内在するVEGF-Aを捕捉すると、TGF- β による細胞伸長反応は抑制された。またFoxo1欠損血管内皮細胞は、TGF- β による細胞伸長反応が障害されていた。次に、Foxo1またはFoxo3遺伝子をFoxo1欠損ES細胞に発現誘導する系を作成し、それぞれのクローンで遺伝子発現および分化効率に差がないことを確認した後に、Foxo3遺伝子をFoxo1欠損血管内皮細胞で発現させることで、VEGF-Aに対する血管内皮細胞形態反応が回復するのかどうかを調べた。分化早期段階ではFoxo3を発現させても形態反応異常を回復させるには至らなかった。しかし分化後期段階では、Foxo3はFoxo1と同じ働きを示し、VEGF-A応答性の細胞伸張が促進された。

[考察] Foxo1依存的な血管内皮細胞の伸張反応は、VEGF-Aに対してだけではなく、内在性のVEGF-A存在下にTGF- β に対しても引き起こされたことから、Foxo1は、さまざまな血管新生刺激への形態反応において、集約的かつ重要な役割を果たしていることが示唆された。また、分化がすすむと、分化早期では認めなかったFoxo3誘導によるFoxo1欠損血管内皮細胞での血管伸張反応が回復したため、分化段階によって異なる形態制御機構が存在すると考えられた。さらに分化後期には、Foxo1欠損血管内皮細胞にFoxo1またはFoxo3を誘導すると、内在性VEGF-Aのみの条件でも伸張反応を認めたことからFoxo1はVEGF-Aによる細胞の伸張反応閾値を下げるのが想定された。

[結論] 血管新生刺激に対する血管内皮細胞の形態制御は、分化がすすむとFoxo1もしくはFoxo3への依存性が変化することから、分化に伴い異なる機序が存在することが明らかになった。Foxoサブファミリーは、VEGF-AやTGF- β などの血管新生因子刺激に対して血管内皮細胞が適切に反応し、正常な血管を形成する過程で重要な役割を担うことが示唆された。