

## 論文内容の要旨

論文提出者氏名 寺田 兼輔

### 論文題目

Transplantation of periaortic adipose tissue inhibits atherosclerosis in *apoE*<sup>-/-</sup> mice by evoking TGF- $\beta$ 1-mediated anti-inflammatory response in transplanted graft

### 論文内容の要旨

近年、血管支持組織に過ぎないと考えられていた血管周囲脂肪組織 (Periaortic adipose tissue : PAT) が動脈硬化形成に関与することが報告され注目を集めているが、その機序は未だ解明されていない。高脂肪食を与えたマウスから胸部大動脈 PAT (Thoracic PAT : tPAT) を移植された頸動脈ではワイヤー障害後の新生内膜増殖が促進することが報告されており、脂質異常や肥満では PAT が動脈硬化に悪影響を及ぼすことが示唆される。しかし、我々はすでに、高コレステロール食を与えたアポリポプロテイン E 欠損 (*apoE*-KO) マウスから採取した tPAT を移植すると、全身での動脈硬化形成が促進されることを報告しているが、通常食を与えたマウスから tPAT が移植されたマウスではコントロール群に比べて動脈硬化が抑制される傾向を示していた。これは、本来 PAT は動脈硬化を抑制する特性を有していることを示唆する。本研究では血管周囲脂肪が動脈硬化に及ぼす影響に関して、tPAT 移植モデルを用いて検討した。

16 週齢の C57BL/6 マウスの tPAT を採取し、動脈硬化モデルマウスである (*apoE*-KO) マウスの腹部大動脈 PAT を除去して腹部大動脈の上に移植するという手技を行った。術前 12 週間にわたり高コレステロール食負荷をかけ、さらに術後 4 週間後まで継続し 24 週齢での動脈硬化形成の評価を解析した。移植群では、全大動脈壁のオイルレッド O 染色によって求めた%プラーク面積が sham 群に比して 20%の有意な減少を認めた。体重や脂肪重量、脂質プロファイルは 2 群間で有意差を認めなかった。全大動脈での動脈硬化が抑制されていたことから、何らかの内分泌的作用によって動脈硬化抑制作用を発揮していることが示唆される。

続いて、sham 群と tPAT 移植群における tPAT 移植片 (Graft) の表現型変化を解析した。HE 染色では Graft は白色脂肪組織様に脂肪滴の増大を認めた。Real-time PCR 法を用いた炎症性サイトカイン・抗炎症性サイトカインの解析では、炎症性サイトカインのみならず、TGF- $\beta$  1、IL-4、IL-10 などといった抗炎症性サイトカイン発現の亢進が認められた。TGF- $\beta$  1 はプラーク内の脂肪蓄積やマクロファージ浸潤を抑制し、コラーゲン成分を増加させることでプラークの安定化、動脈硬化進展を抑制することが既に報告さ

れている。そこで ELISA 法で血清タンパク濃度を測定したところ、移植群の血清 TGF- $\beta$  1 濃度が増加していた。また、血清 TGF- $\beta$  1 濃度と%プラーク面積の間に負の有意な相関関係が示された。(r=-0.63、P<0.05)

さらに、sham 群・tPAT 移植群の各々に術後 4 週間にわたって TGF- $\beta$  中和抗体の腹腔内投与を行ったところ、tPAT 移植による動脈硬化抑制効果は見られなくなった。以上より、抗炎症性サイトカインである TGF- $\beta$  1 がメディエーターとして全身の動脈硬化抑制作用を発揮していると考えられる。

TGF- $\beta$  1 を分泌する細胞としては、主に抗炎症性のマクロファージである M2 マクロファージと制御性 T 細胞が知られている。我々は TGF- $\beta$  1 を分泌している細胞を特定するため、Graft で TGF- $\beta$  と Mac-2 もしくは CD4 の共染色を行った。すると、Graft にはほとんど CD4 陽性細胞は見られず、移植前と比べて Mac-2 陽性細胞が著明に増加しており、その中に TGF- $\beta$  と共染色される細胞が見られた。さらに、Real-time PCR を用いた解析では、炎症性マクロファージである M1 マクロファージのみならず、M2 マクロファージマーカーも発現が大きく亢進していた。以上から、Graft 内の M2 マクロファージが TGF- $\beta$  1 を産生、分泌していることが示唆される。

また、Graft 内で M2 マクロファージが増加する機序を探るため、M2 マクロファージへの分化誘導因子の一つである IL-4 と好酸球について検討した。すると、移植前の tPAT では精巣上体白色脂肪組織 (Epididymal white adipose tissue) と比較して、組織内の好酸球比率、IL-4 濃度いずれも有意に高かった。(P<0.05) また、移植後の Graft では IL-4 の発現レベルが経時的に亢進しており、移植後さらに好酸球、IL-4 が増加していることが示唆される。

本研究の結果より、*apoE*-KO マウスを用いた移植実験において、血管周囲脂肪組織に生じる損傷、炎症とその修復機構は、動脈硬化の進展に対して抑制的に作用することが判明した。その機序として少なくとも一部に、炎症性単球細胞の IL-4 による M2 マクロファージへの分化とそこから産生される TGF- $\beta$  1 の関与が考えられた。我々は血管周囲脂肪組織の特異性を見出し、血管周囲脂肪式の微小環境の維持が心血管疾患予防につながる新たな先制医療の構築に繋がる可能性を包含していると考えた。