

## 審 査 結 果 の 要 旨

報告番号	乙 第 <b>2852</b> 号	氏名	仲吉 孝晴
審 査 担 当 者	主 査	田中啓之 (印)	
	副主査	池田スズ (印)	
	副主査	鹿毛政義 (印)	
主論文題目：FOXO4-knockdown suppresses oxidative stress-induced apoptosis of early pro-angiogenic cells and augments neovascularization capacities in ischemic limbs (FOXO4 転写因子抑制による前血管新生細胞のアポトーシス抑制効果と虚血下肢への血管新生増強効果の検討)			

### 審査結果の要旨 (意見)

閉塞性動脈硬化症による重症虚血肢に対する血管新生療法は近年期待されている高度先進医療の一つである。本論文は、血管内皮前駆細胞のアポトーシス調節に FOXO4 転写因子が関与している点に着目し、Magnetfection 法による FOXO4 siRNA 導入が血管内皮前駆細胞に与える機能変化について培養細胞、ラット下肢虚血モデルを用いて研究した。その結果、FOXO4 ノックダウン EPC が血管内皮前駆細胞の虚血ストレスに対するアポトーシス耐用能を強化し、in vivo のラットモデルにおいて、その血管新生機能を増強させることを明らかにした。本論文で得られた知見は、臨床応用も視野にいた、非常に価値の高い内容を含んであり、学位論文としてふさわしいものであると判定した。

### 論文要旨

我々は重症虚血下肢を救済すべく、前血管新生細胞(early pro-angiogenic cells:EPCs)の筋肉内投与による血管新生療法を実施しているが、十分な効果が得られない例も経験する。その理由の一つとして虚血筋組織内の酸化ストレスによる EPCs の生存能低下が考えられる。最近 FOXO4 (Forkhead transcription factor 4)が酸化ストレスによる EPCs のアポトーシスに関与していることが報告された。そこで我々は EPCs の FOXO4 発現を予めノックダウンすることで、虚血肢に投与された EPCs の抗アポトーシス能および血管新生能が増強できるかを検証した。

ヒト末梢血中の単核球細胞から EPCs を分離培養し、magnetofection 法で FOXO4 siRNA を導入し FOXO4 ノックダウン EPCs を作製した。同 EPCs は in vitro において酸化ストレスに対するアポトーシスが抑制され、EPCs 内のアポトーシス促進蛋白である BimEL や cleaved caspase-3 の発現も減少していた。また同 EPCs をラット虚血肢に筋注投与したところ、アポトーシスの抑制によって生存能が増強した結果、血管新生効果が増強された。また、その虚血肢において、VEGF、b-FGF、SDF-1、IGF-1 の発現が亢進しており、より多くの EPCs が虚血肢組織内の内皮細胞内に取り込まれていることが明らかとなった。FOXO4 をノックダウンすることで EPCs の酸化ストレスに対する抗アポトーシス能力を高めることができ、既存の血管新生療法の効果を増強させる新たな手段となり得る可能性がある。