

【背景と目的】

成体のほとんどの正常組織ではペリサイトが内皮細胞を被覆し安定な血管構造を維持している。ペリサイトは、毛細血管や細静脈の内皮細胞を被覆し、血管の維持、血流調節、血管形成、血液脳関門の形成・維持に関与すると考えられているが、その詳細は不明である。創傷などにより組織が虚血に陥ると、血管新生促進因子が産生され、血管新生を誘導する。血管新生促進因子は、血管壁からペリサイトを剥離し、内皮細胞の出芽・遊走・増殖を促すことで、虚血部位に新たな血管網を構築する。血管新生には、創傷治癒などにおいて誘導され生体恒常性維持に寄与する生理的なものと癌など種々の疾患において誘導され疾患の病態を進展する病的なものに分類される。しかし、生理的・病的な血管新生において内皮細胞・ペリサイトが新生血管を構築する機構については不明な点が多く、その解明は効果的な血管再生療法や病的血管新生に関わる疾患の治療法の開発につながると考えられる。本研究では、蛍光イメージングにより創傷治癒における血管新生をライブで観察し、その制御機構の解明を目指した。

【方法】

哺乳動物における創傷治癒の主なプロセスが保存されているゼブラフィッシュをモデル脊椎動物として用いた。血管内皮細胞及びペリサイトで蛍光蛋白質を発現するゼブラフィッシュを用い、成魚の皮膚に損傷を加え、共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて、創傷治癒における血管新生のライブイメージング解析を行った。

【結果・考察】

正常皮膚の毛細血管では、内皮細胞・ペリサイトは共に休止状態にあり安定な血管構造を維持していた。また、内皮細胞に対するペリサイトの存在比率は、 0.61 ± 0.13 であった。皮膚の真皮・表皮に損傷を加えたところ、損傷後2日目(2 dpi)から損傷血管の伸長と非損傷血管からの出芽が誘導された。4 dpiには、血管の出芽・分岐・吻合が活発に起こり、多くの血管で蛇行が認められ、6 dpiには、無秩序な高密度の血管網が形成された。また、全出芽の約76%は、静脈血管から起こり、主に動脈血管に吻合していた。その後、一部の血管が退縮することで正常化し、損傷1～2ヶ月後には損傷前と同様な血管網が構築された。また、創傷治癒における血管新生は血管内皮増殖因子によって誘導されることが示された。

次いで、内皮細胞とペリサイトが新生血管を形成する機構を理解するため、真皮層毛細血管を1本切断し、その修復過程を経時的に観察した。2～3 dpiで血管が吻合し、損傷前とほぼ同数の内皮細胞が修復血管を構築していたが、その後も内皮細胞は増殖を続け、7 dpiには損傷前の約1.8倍まで数を増加させ、血管を蛇行させた。その後、数ヶ月に渡って内皮細胞が徐々に消失し、血管が正常化した。また、血管新生の誘導によって、ペリサイトは内皮細胞と同様な時間経過で数を増加させ、蛇行血管の内皮細胞を被覆したが、血管の正

常化に伴って数を減少させた。ペリサイトの増加は、ペリサイトの増殖と遊走に起因していた。

血管新生によるペリサイトの増加と蛇行血管の被覆は、「血管新生において、血管壁からのペリサイトの剥離が、内皮細胞の出芽を促す」というこれまでの概念と矛盾する。そこで、内皮細胞の出芽部位と近傍のペリサイトの位置関係を解析したところ、内皮細胞はペリサイトの位置に無関係に出芽しており、内皮細胞の出芽にペリサイトの剥離が必ずしも必要ないことが示された。

以上の結果から、正常皮膚血管の内皮細胞、ペリサイトは休止状態にあり、安定した血管構造を維持するが、創傷によってこれら細胞は迅速に活性化し血管新生を誘導すること、また、損傷後一週間程度で、密度が高く無秩序な血管網が構築されるが、その後、過剰な血管が徐々に退縮し、数ヶ月かけて血管が正常化することが示された。さらに、血管新生では、ペリサイトが血管壁から剥離することで内皮細胞が出芽すると考えられてきたが、逆にペリサイトは血管新生の誘導によって増殖し、蛇行血管を被覆することが示された。

癌や糖尿病網膜症では、ペリサイトの被覆が欠如した無秩序で機能的に未熟な血管が作られ病態を悪化させる。そのため、創傷治癒などで起こる生理的血管新生では、ペリサイトが増殖し血管を被覆することで過剰な出芽を抑え、機能的な血管網を構築するが、病的血管新生では何らかの原因でペリサイトの被覆が起こらず、それによって過剰な出芽が起こり、機能的に未熟な血管網が形成されると考えられる。従って、本研究は、病的血管新生に関わる疾患の病態解明、さらには治療法開発に繋がる重要な成果である。

【結論】

ゼブラフィッシュを用いた蛍光イメージングにより、創傷治癒に伴う血管新生の全プロセスを解明するとともに、血管新生におけるペリサイトの新たな機能を明らかにした。