

本研究は血管新生において中心的な役割を果たすと考えられる、血管内皮前駆細胞(以下、EPC)について詳細な検討を行ったものである。EPCは末梢血の単核球系細胞に含まれると考えられ、近年では *ex vivo* で培養を行った結果得られる EPC を、その colony 出現時期に応じて *early EPC* および *late EPC* と分類し、その役割の相違について様々な研究がなされている。ここでは、ヒト末梢血由来の単核球を内皮細胞用の培地で培養し、培養開始から colony 出現するまでの期間に応じて、EOC (3-7days), MOC (10-16days), LOC (17-23days), VOC (24-30days)と分類し、*in vitro* および *in vivo* において、それぞれの治療的血管新生能を調べ、以下のような結果を得られている。

1. 本研究において定義した各 EPC に関して、その表面マーカーを *flowcytometry* で精査したところ、各 EPC によってその陽性率は異なり、機能的な差異の存在や分化過程の差異の存在を示唆する結果となった。これは、便宜的に定義した分類の妥当性を示唆するものと言えるが、各表面マーカーの意義に関しては科学的に不明な点もあり、今後の精査が望まれる。
2. *MTS assay* を用いた細胞増殖能試験、および *Matrigel assay* を用いた血管新生能試験において、各 EPC の中で LOC が最も優れていることが示された。
3. 定量的 PCR 法による、mRNA 発現量を精査した結果、LOC において eNOS の発現が他 EPC に比し有意に亢進していることが示された。血管新生の過程における eNOS の役割に関しては不明な点も多いが、*in vivo* の実験で LOC が優れた血管新生能を示す、一つの根拠である可能性が示唆される。
4. EPC 投与による治療的血管新生能を調べるため、免疫不全マウスを用いて下肢虚血モデルを作成し評価を行った。まず、GFP 遺伝子を導入して標識した EPC の投与を行い、投与した EPC が実際に内皮細胞に分化し、毛細血管網の一部として下肢血流の回復に寄与しているか否かを精査した。その結果、他 EPC に比し、LOC 投与群で有意にその寄与率が高いことが示された。ただし、実際に投与した EPC が毛細血管に分化している割合は限られていると推測され、EPC 投与による下肢血流の回復は、直接的な内皮細胞への分化だけでは説明がつかないことが示唆された。
5. 次に、下肢血流の経時的・継続的な回復を評価するため、レーザードップラーによる下肢血流の評価、および毛細血管量の組織学的評価を行った。いずれにおいても、LOC 投与群で他 EPC 投与群に比し優れた結果を示した。

以上、本論文は EPC と称される細胞群の中でも、内皮細胞用の培地で培養した後、17-23 日目に colony を形成する EPC が、最も優れた血管新生能を有する可能性があることを示した。本研究の結果は、発展途上である EPC を用いた治療的血管新生の研究に重要な貢献をなすことが期待され、学位の授与に値すると考えられる