

論 文 内 容 要 旨

題目 Role of macrophage-derived hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α as a mediator of vascular remodeling

(血管リモデリングにおけるマクロファージ HIF-1 α の役割)

著者 Taisuke Nakayama, Hirotsugu Kurobe, Noriko Sugasawa, Hajime Kinoshita, Mayuko Higashida, Yuki Matsuoka, Yasushi Yoshida, Yoichiro Hirata, Mie Sakata, Mark W. Maxfield, Michio Shimabukuro, Yousuke Takahama, Masataka Sata, Toshiaki Tamaki, Tetsuya Kitagawa, Shuhei Tomita

平成 25 年発行 Cardiovascular Research に掲載予定

内容要旨

動脈硬化やステント留置に伴う血管リモデリング形成過程において、血管およびその周囲組織の低酸素環境が、筋線維芽細胞の増殖や血管外膜における細胞外マトリックス成分の増加の一因と考えられている。血管リモデリングにおいて、免疫担当細胞の低酸素環境への反応は、その病態生理を制御する上で大変重要な役割を担っていると推測されるが、詳細なメカニズムは十分に理解されておらず、治療標的としての意義についても不明である。

そこで申請者は、hypoxia inducible factor (HIF) が動脈硬化や血管傷害などの血管リモデリングの病態にどのように関与するかについて分子レベルで研究を行った。

まず C57/BL6 マウスの下肢動脈傷害モデル (wire injury model; WIM) の局所に低酸素環境がみられ、Hif-1 α が誘導されるか否かを評価した。次いで、マクロファージ特異的 Hif-1 α ノックアウトマウス (*LysM-Cre; Hif-1 α ^{fllox/fllox}* 以下 K0 群) の WIM を作製し血管リモデリングの過程における HIF の役割を組織学的に対照群 (*LysM-Cre; Hif-1 α ^{+/+}* 以下 Wild 群) と比較検討し、さらにマクロファージの動態を免疫組織学的に解析した。更に、これら *in vivo* の実験結果の病態メカニズムの解明のため、K0 群と Wild 群の腹腔マクロファージを採取して、その増殖能、遊走能、サイトカイン産生能に関して各々 *in vitro* で解析した。また、K0 群と Wild 群のマクロファージの炎症性 M1、抗炎症性 M2 の極性に関して、傷害血管組織の免疫染色と、傷害血管と周囲脂肪から抽出した組織のサイトカイン産生で評価した。

様式(8)

結果は以下の如くである。

- 1) C57/BL6 マウスの WIM では、血管傷害誘発後 28 日目をピークに低酸素マーカーおよび HIF-1 α の発現が血管周囲から肥厚した内膜に至るまで広く確認された。
- 2) KO 群では、Wild 群に比較して血管傷害後に認められる新生内膜の増殖が有意に抑制され、また外膜周囲に浸潤するマクロファージの数も低下していた。
- 3) *in vitro* の解析では、マクロファージの増殖能に有意差を認めなかったが、KO 群で遊走能が有意に低下していた。
- 4) マクロファージの IL-6 や TNF- α などの炎症性サイトカイン産生能は、KO 群で Wild 群に比較して低下していた。同様の結果が傷害血管と周囲脂肪組織の RT-PCR でも確認された。
- 5) KO 群のマクロファージでは極在が M2 にシフトする現象が組織免疫染色および組織検体の RT-PCR により認められた。

以上から、低酸素刺激によって誘導されるマクロファージ Hif-1 α は、血管傷害の局所においてマクロファージの遊走能と炎症反応を増大し、さらにマクロファージの極性を M1 にシフトさせ、血管リモデリングの形成に大きく影響していた。マクロファージ Hif-1 α は血管リモデリングのメカニズムを解明する重要な因子である。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1171 号	氏名	中山 泰介
審査委員	主査 松本 俊夫 副査 親泊 政一 副査 赤池 雅史		

題目 Role of macrophage-derived hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α as a mediator of vascular remodeling

(血管リモデリングにおけるマクロファージ HIF-1 α の役割)

著者 Taisuke Nakayama, Hirotsugu Kurobe, Noriko Sugawara, Hajime Kinoshita, Mayuko Higashida, Yuki Matsuoka, Yasushi Yoshida, Yoichiro Hirata, Mie Sakata, Mark W Maxfield, Michio Shimabukuro, Yousuke Takahama, Masataka Sata, Toshiaki Tamaki, Tetsuya Kitagawa and Shuhei Tomita

平成 25 年発行 Cardiovascular Research に掲載予定
(主任教授 北川哲也)

要旨 血管リモデリングにおいて、免疫担当細胞は低酸素環境に反応して重要な役割を担っていると推測されるが、詳細なメカニズムは十分に理解されていない。本研究は、マクロファージの hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) が動脈硬化や血管傷害などの血管リモデリングに重要な影響を及ぼす可能性があるという仮説のもとに行われた。

申請者らは、まず C57/BL6 マウスの下肢動脈傷害モデル(wire injury model; WIM)の局所に低酸素環境及び HIF-1 α が誘導されるか否かを評価した。次いで、マクロファージ特異的 *Hif-1 α* ノックアウトマウス (*LysM-Cre;Hif-1 α ^{flox/flox}* 以下 KO 群) の WIM を作製し、組

織学的に対照群 (*LysM-Cre;Hif-1 α ^{+/+}*以下 Wild 群) と比較検討した。同時に、マクロファージの局在を免疫組織学的に解析した。これら実験結果の病態メカニズムの解明のため、KO 群と Wild 群の腹腔マクロファージを採取して、増殖能、遊走能及びサイトカイン産生能について *in vitro* で解析した。最後に、マクロファージの炎症性 M1、抗炎症性 M2 の極性について、傷害血管組織の免疫染色と、組織のサイトカイン産生能から評価した。

結果は以下の如くである。

- 1) C57/BL6 マウスの WIM では、血管傷害誘発後 28 日目をピークに血管周囲から、肥厚した内膜に至るまで広く低酸素状態となり、マクロファージの HIF-1 α が発現した。
- 2) KO 群では、Wild 群に比較して血管傷害後に認められる新生内膜の増殖が有意に抑制され、また外膜周囲に浸潤するマクロファージが減少した。
- 3) 腹腔内マクロファージの増殖能は両群間で有意差を認めなかったが、遊走能は KO 群で有意に低下した。
- 4) 腹腔内マクロファージの IL-6 や TNF- α などの炎症性サイトカイン産生能は、KO 群で有意に低下した。
- 5) KO 群のマクロファージでは極性が M2 にシフトした。

以上の結果より、申請者らは、マクロファージの HIF-1 α が、血管傷害の局所においてマクロファージの遊走能と炎症反応を増大し、極性を M1 にシフトさせることで、血管リモデリングの形成に影響していることを明らかにしている。本研究は、動脈硬化や血管傷害などの病態メカニズムの解明と、新たな治療法の開発に貢献するものであり学位授与に値すると判定した。