

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18907

研究課題名(和文)皮弁生着における血管内皮細胞及び線維芽細胞内ERK5活性化の役割解明

研究課題名(英文)Elucidation of the role of ERK5 activation in vascular endothelial cells and fibroblasts in flap engraftment.

研究代表者

津田 達也(TSUDA, Tatsuya)

徳島大学・病院・医員

研究者番号：80791780

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):皮弁術におけるERK5の役割解明のため我々は血管内皮細胞特異的ERK5ノックアウトマウスを作成し、皮弁術を施行しその生着率をワイルドタイプと比較した。結果、ノックアウトマウス群において皮弁の生着率の向上が見られ、組織学的検査で血管新生の向上を認めた。血管新生に関連する因子としてHIF1のタンパク量、pERK5及びtERK5タンパク量の解析を行った結果、ノックアウトマウス群でHIF1タンパク量の増加とp/tERK5タンパク量の減少が確認できた。以上よりERK5のノックアウトによりHIF1タンパク量が増加することで血管新生が亢進することが確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

皮弁術は皮膚欠損の再建方法として広く行われている術式である。しかし、皮弁には血流不全及び虚血再灌流障害による壊死が生じるリスクがある。臨床では血行動態の改善に焦点を置いた治療が行われているが、その効果は充分ではなく新しい治療法の開発が求められている。本研究では血管新生に関わる重要な因子であるERK5を抑制することで皮弁の生着率が向上することを発見した。今後さらなる研究を続けることで、ERK5とその関連因子の抑制剤を用いた新たな治療法を開発できると考えられる。

研究成果の概要(英文):To elucidate the role of ERK5 in flap surgery, we created vascular endothelial cell-specific ERK5 knockout mice, performed flap surgery, and compared their engraftment rates with wild-type mice. As a result, an improvement in flap engraftment rate was observed in the knockout mouse group, and histological examination showed an improvement in angiogenesis. As a result of analyzing the amount of HIF1 protein, pERK5 and tERK5 protein as factors related to angiogenesis, it was confirmed that the amount of HIF1 protein increased and the amount of p/tERK5 protein decreased in the knockout mouse group. From the above, it was confirmed that angiogenesis is promoted by increasing the amount of HIF1 protein by knocking out ERK5.

研究分野：形成外科学

キーワード：ERK5 皮弁術 血管新生 HIF1

1. 研究開始当初の背景

皮弁術は皮膚欠損の再建方法として広く行われている術式である。しかし、皮弁には血流不全及び虚血再灌流障害による壊死が生じるリスクがある。臨床では血行動態の改善に焦点を置いた治療が行われているが、その効果は充分ではなく新しい治療法の開発が求められている。

2. 研究の目的

近年血管新生の制御因子としてマイトジェン活性化プロテインキナーゼ (MAPK) のメンバーである ERK5 が注目されている。過去の報告によれば、血管内皮細胞において ERK5 には主に 2 つの作用がある。

一つは ERK5 の活性化による血管保護作用である。ERK5 は血管内皮細胞のアポトーシスを抑制することで血管の管腔構造を維持する働きがある。

もう一つは血管新生抑制作用である。虚血組織における血管新生において中心的な役割を果たす因子として HIF1 が知られている。HIF1 は低酸素刺激により産生され VEGF や eNOS、ANGPT 等を直接的に制御し血管新生を誘導する。ERK5 は活性化されることでこの HIF1 を分解し血管新生を抑制する働きがある。

ERK5 は既存血管の保護と血管新生の抑制の 2 つの作用を通じて血管の恒常性を維持していると考えられている。

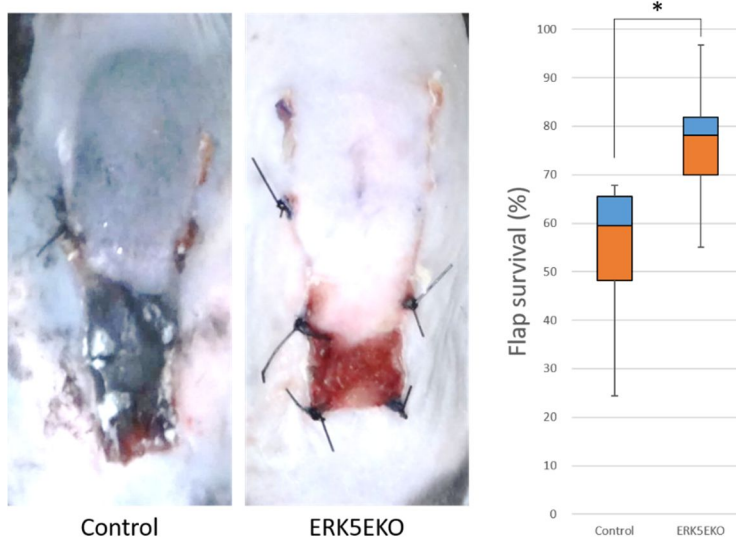
ERK5 は ROS や低酸素刺激により活性化され血管保護作用に働くとの報告がある。逆に偽性低酸素状態を引き起こす高血糖刺激により ERK5 は抑制されることで血管新生が促進されるとの報告もある。皮弁術施行後の組織内の ERK5 の動態については未だ解明されていなかったため、WT マウスに対しランダムパターンフラップを作成しその発現について解析を行った。rtPCR による解析の結果、術後 1 日目では ERK5 の発現は抑制されているが、3 日目には増強していることが分かった。経時変化に伴いその発現が増減していることから、ERK5 が皮弁の生着に影響を与える因子の一つであると考え、ERK5EK0 を作成し WT マウスと比較することでその影響を調べることとした。

3. 研究の方法

ERK5EK0 群のマウスと Wild Type 群のマウスそれぞれに皮弁作成術を行い、その生着率の比較と、術後の組織について組織学的解析および生化学的解析を行い ERK5 のノックアウトの影響を調べた。

4. 研究成果

WT マウス及び ERK5EK0 に対しマウス皮弁モデルを作成したところ、ERK5 のノックアウトにより皮弁の生着率が向上した。



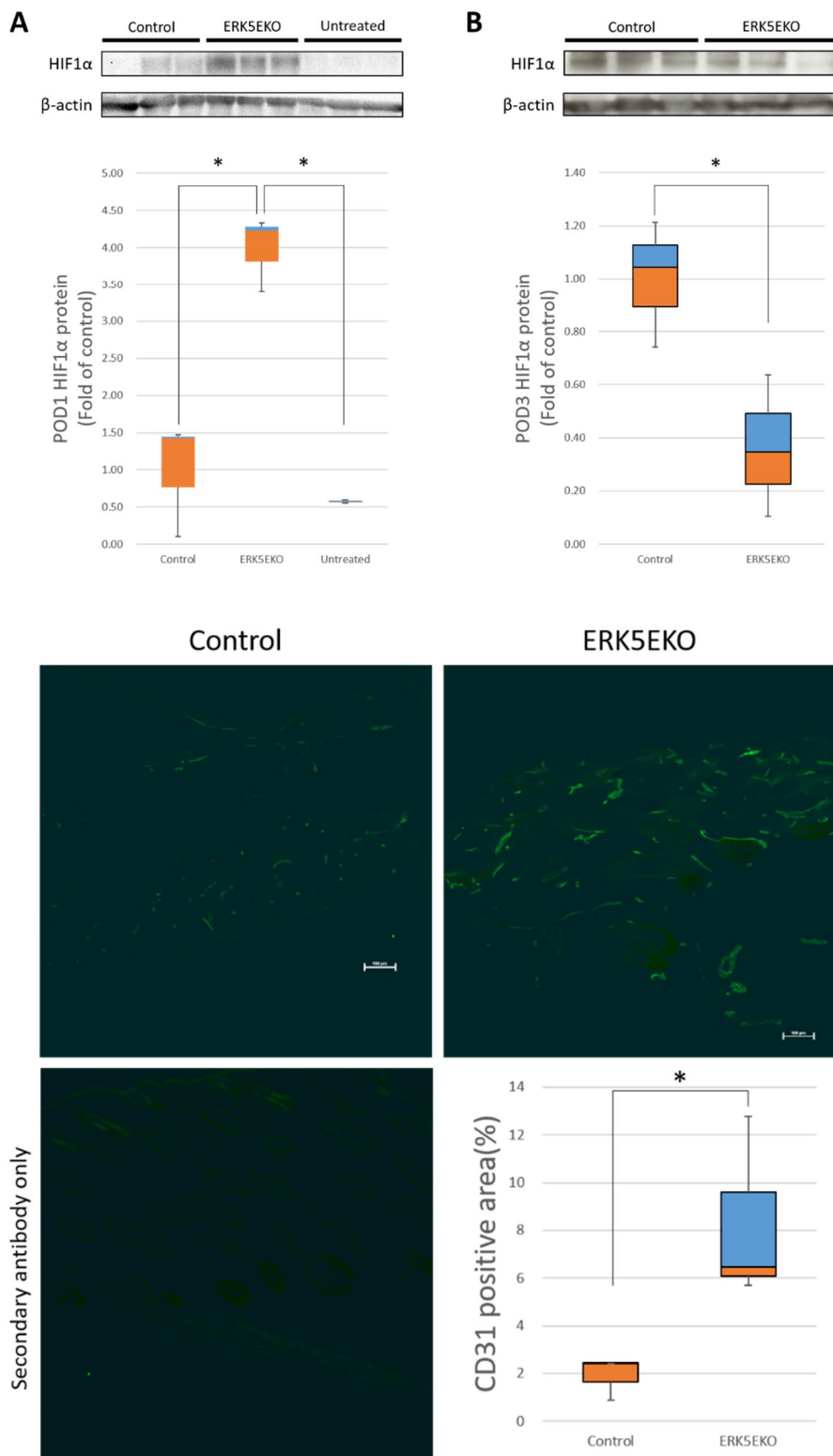
ERK5 の抑制

Control

ERK5EK0

は HIF1 蛋

白の分解を抑制し血管新生を促進させることが知られており、皮弁内でも同様の現象が起こっていると考えさらに解析を進めた。すると術後1日目にはERK5のノックアウトによりHif1タンパク量が増大しており、3日目には血管新生が増強していることが分かった。



当研究室では過去に HIF1 蛋白の安定化が血管新生を亢進させ皮弁生着率を向上させることを報告している。また、HIF1 をノックアウトしたマウスは血管新生が現象し皮弁生着率が低下するとの報告もあり、本研究の結果はこれらと矛盾しなかった。

WT マウスでは手術により ERK5 発現は低下していることから、手術による何らかの刺激が ERK5 発現を抑制し、血管新生が促進されて皮弁の生着に寄与していると考えられるが、ERK5 のノックアウトはさらに ERK5 発現を低下させることで通常よりも皮弁の生着率を向上させているものと思われる。これは ERK5 を介した経路が皮弁生着に重要であることを示しており、ERK5 阻害剤の使用やその上流・下流のキナーゼの抑制が皮弁生着率を向上させる治療法として有用であることを示唆している。

術後の ERK5 の抑制がどのような刺激により起こっているかについては今回の研究では解明することが出来なかった。その解明のため手術後の皮弁組織内の ERK5 活性や VEGF レセプターの発現量などについて解析を行なったが、ERK5EK0 のノックアウトは血管内皮細胞に特異的に起こっており、皮弁組織内における血管内皮細胞の細胞量は線維芽細胞等他の細胞に比べ少ないため血管内皮細胞内における変化を捉えることは困難であった。

手術による刺激は低酸素刺激であるが、低酸素刺激は ER5 を活性化すると報告が多く見られる。しかし、網膜色素上皮細胞においては低酸素刺激により ERK1/2 が活性化されるのに対し、ERK5 は活性化されないとの報告もある。各種刺激による ERK5 の動態は文献により異なる報告が散見される。本研究では手術による刺激が ERK5 を一時的に抑制した後に活性化が起こった。また、糖尿病性網膜症に対する研究では高血糖刺激は一時的に ERK5 を活性化するがその後その活性を抑制すると報告されている。このことから経時的変化により ERK5 の活性は上下しており、組織や刺激によりその変化は異なると考えられる。本研究では術後一時的に抑制された ERK5 が、3日目には増大していた。ERK5 抑制により安定化された HIF1 は VEGF を誘導し血管新生を促進させる。それと同時に、VEGF は ERK5 を活性化することも知られている。VEGF により活性化された ERK5 は血管保護作用を示すと報告されていることから、術後3日目に活性化された ERK5 は皮弁組織内の血管の保護に働いている可能性がある。当研究室では以前スタチンが ERK5 の活性化に対し有力な薬剤であることを報告している。過去の文献ではスタチンの投与により皮弁の生着率が向上すると報告がある他、スタチンによる血管保護作用には ERK5 を介した経路が重要であると報告されている。このことから、ERK5 の抑制だけではなく、活性化も皮弁生着率を向上させる可能性がある。本研究で術後全期間に渡る ERK5 の抑制が皮弁生着率を向上させたことから、皮弁の生着においては ERK5 の抑制による血管新生の増加が血管保護作用の減弱よりも効果が高いことが分かったが、血管新生が完了するまでの術後早期に ERK5 を抑制し、血管新生が完了した術後晩期に ERK5 を活性化させることで本研究の結果よりもさらに皮弁生着率を向上させる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 津田達也、石澤有紀、安倍吉郎、橋本一郎
2. 発表標題 血管内皮細胞特異的ERK5欠損の皮弁生着に対する影響の検討
3. 学会等名 第28回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------