

機関番号：32607
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009～2010
 課題番号：21791331
 研究課題名（和文） 虚血組織における VEGFR1 チロシンキナーゼの血管新生増強メカニズムの解析
 研究課題名（英文） The role of VEGFR1 on angiogenesis in ischemic tissue

研究代表者
 天野 英樹（AMANO HIDEKI）
 北里大学・医学部・助教
 研究者番号：60296481

研究成果の概要（和文）：

VEGFはVEGFR1-3の受容体があり、R1,R2は血管新生に関与している。我々はVEGFR1TK^{-/-}と野生型マウスで下肢虚血及び腫瘍接種モデルを作成し、その時の VEGFR1TK の機序について検討した。VEGFR1TK^{-/-}は野生型と比較し有意に虚血の改善及び腫瘍の増殖が抑制された。また骨髄組織から動員された CXCR4+VEGFR1+細胞は VEGFR1TK^{-/-}で有意に低下が認められ、VEGFR1TK^{-/-}の骨髄を野生型に移植すると虚血改善の遅延が認められた。以上より、虚血の改善及び血管新生に VEGFR1TK シグナルが重要であることが推測された。

研究成果の概要（英文）：

Vascularendothelialgrowthfactor(VEGF)isessentialfordevelopmentalandpathologicalangiogenesis. Two VEGF receptors tyrosine kinase have been identified, VEGFR1 and VEGFR2. These two receptors are involved in angiogenesis but the molecular base of their actions is not well understood. Here we report that in murine ischemic hind limb model and tumor implanted model using deletion of domain of VEGFR1 decreased the recovery from ischemic condition. VEGFR1 TK^{-/-} mice exhibited delayed blood flow recovery from ischemia and impaired angiogenesis compared to wild type mice. Furthermore, compared to wild type mice, plasma level of stem cell factor (SCF), stromal derived factor-1 (SDF-1) and pro-MMP-9 were decreased in VEGFR1 TK^{-/-}. Bone marrow derived CXCR4+VEGFR1+ cells were significantly decreased in VEGFR1 TK^{-/-} mice compared to WT. Wild type mice transplanted VEGFR1 TK^{-/-} bone marrow decreased the recovery from ischemic condition compared to wild type mice transplanted with wild type mice. These results suggested that the VEGFR1 TK signaling modulate the mobilization of bone marrow cells to ischemic muscle

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：血管新生、VEGFR1TK

1. 研究開始当初の背景

VEGFには1型から3型(VEGFR1-3)までの3つの受容体サブタイプがあり、VEGFR2は主に血

管内皮に、VEGFR3は主にリンパ管内皮に発現し、それぞれ血管新生、リンパ管新生増強作用を示す(図1)。VEGFのVEGFR1に対する親和

性はVEGFR2に比べ低い、VEGFR1は特に造血系細胞で広く発現が認められ、その生理的機能および病態の関与については不明な部分が多い。既存の血管から新生血管が形成する際にVEGFR2が中心的な役割を持つと考えられたが、浅原らにより骨髄由来のVEGFR-2陽性細胞 (Endothelial progenitor cell=EPC) が血管新生の中心的役割を担っていると報告された (*Science*. 1997 275(5302)964-87)が、今日それが、ごく限局された部位で低頻度に起こっている現象であることが定着しつつある。最近になり、興味あることにKaplanらは腫瘍の転移に骨髄由来のVEGFR1陽性細胞が重要な役割を担っていることを報告した (*Nature* 2005 438(7069) 820-7)。これよりVEGFR1陽性細胞の骨髄からの動員、およびその機能が血管新生に重要な役割を担っている可能性が高まった。

2. 研究の目的

本研究では、VEGFR1TK^{-/-}と野生型マウス(以下WT)を用いて①抗がん剤 (5FU) 投与後の骨髄機能回復能の違いの検討 ②. 下肢虚血モデルにおける虚血改善能力及び腫瘍接種モデルにおける腫瘍増殖能の違いの検討③虚血部、腫瘍周囲組織の新生血管が髄由来のVEGFR1陽性であるか否かについて探求することにした。

2010年度は以下の実験を行った

3. 研究の方法

(1) 腫瘍接種モデルを用いた検討

A VEGFR1TK^{+/+}とVEGFR1TK^{-/-}との腫瘍増殖能の比較検討

B 血中のVEGF, SDF-1, SCF値の経時的変化の測定

(2) 免疫組織化学による虚血部におけるPECAM陽性細胞数の比較検討

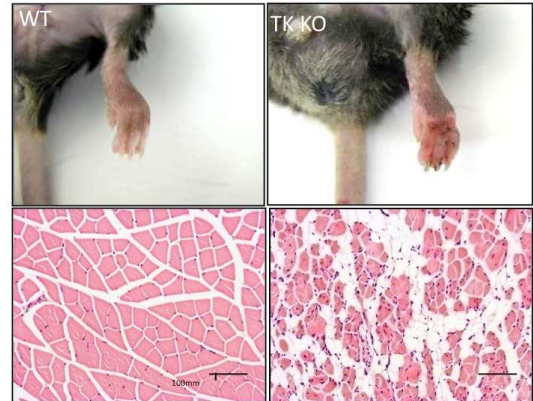
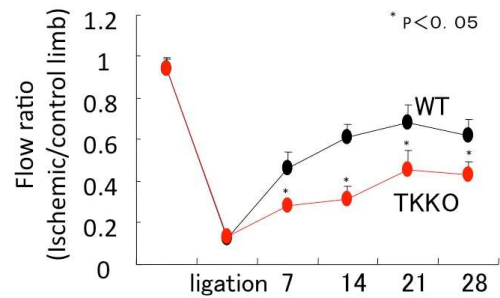
(3) 血中の⁺VEGFR1⁺造血前駆細胞の発現の測定

(4) 骨髄移植による虚血の改善の検討

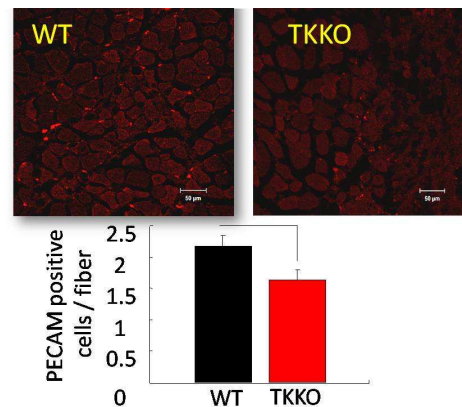
VEGFR1TK^{-/-}の骨髄細胞をWTに移植し、虚血が遅延するか否かの検討

4. 研究成果

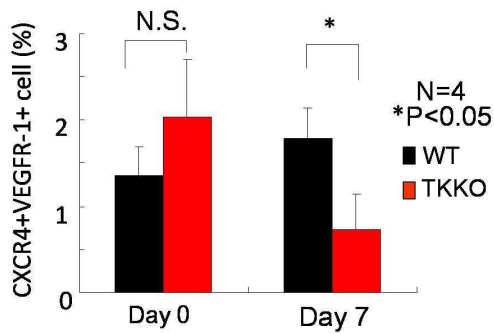
A) 腫瘍接種モデルにおいてVEGFR1TK^{-/-}はVEGFR1TK^{+/+}WTに比べ腫瘍の増殖の遅延(上)及び虚血肢の潰瘍を認めた(下)。



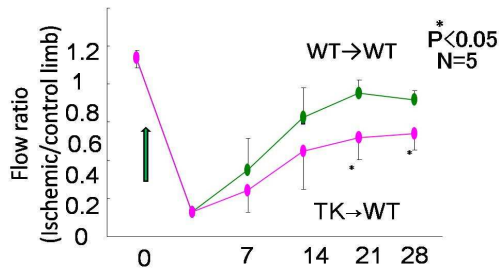
B) 免疫組織化学においてVEGFR1TK^{-/-}はWTと比較しPECAMの発現細胞の低下を認め、定量化しても同様の結果を認めた。



C) VEGFR1TK^{-/-}はWTに比べ、有意に血中で骨髄ストローマ刺激因子であるStem cell factor (SCF), pro MMP-9, SDF-1の低下また腫瘍ストローマ側でのVEGFR1陽性細胞の低下[図]も認めた。



D) VEGFR1TK^{-/-}の骨髄細胞を移植されたWTはWTの骨髄をWTに移植されたマウスよりも有意に虚血の回復の遅延を認めた(図)。



以上の結果より虚血部位の改善、腫瘍増殖の際、骨髄由来のVEGFR1+CXCR4+細胞が不可欠であることが明らかになった。当研究でVEGFR1+CXCR4+細胞が虚血改善治療薬として期待が持てる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

① Amano H, Ohnuma Y, Niibe Y, Hayakawa K, Satoh Y, Majima M

Combined Effect of Anti-Angiogenic Agents, Angiotensin Type 1 Receptor Antagonists and Radiation Therapy.

Current Signal Transduction Therapy 2010 5(3) 206-11 査読あり

② Kato S, Amano H, Ito Y, Eshima K, Aoyama

N, Tamaki H, Sakagami H, Satoh Y, Izumi T, Majima M

Effect of erythropoietin on angiogenesis with increased adhesion of platelets to the microvessels in the hind-limb ischemia

J. Pharmacol Sci 2010 112(2) 167-75

査読あり

③ Kubo H, Hosono K, Suzuki T, Ogawa Y, Kato H, Kamata H, Ito Y, Amano H, Kato T, Sakagami H, Hayashi I, Sugimoto Y, Narumiya S, Watanabe M, Majima M

Host prostaglandin EP3 receptor signaling relevant to tumor-associated lymphangiogenesis. **Biomed. Pharmacother**

2010 64(2) 101-6 査読あり

④ Ueno T, Suzuki T, Oikawa A, Hosono K, Kosaka Y, Amano H, Kitasato H, Toda M, Hayashi I, Kato T, Ito Y, Sugimoto Y, Narumiya S, Okamoto H, Majima M

Recruited bone marrow cells expressing the EP3 prostaglandin E receptor subtype enhance angiogenesis during chronic inflammation.

Biomed. Pharmacother 2010 64(2) 93-100 査読あり

[学会発表] (計3件)

<シンポジウム>

① Amano, H., Kato, S., Ito, Y., Satoh, Y., Majima, M.: Angiogenesis enhanced by TP signal-mediated platelet adhesion to neovascularized endothelial cells with CXCR4+VEGFR1+ cells mobilization during hindlimb ischemia.: 9th World Congress for Microcirculation, Paris 2010. 9. 28 (P53)

<ワークショップ>

① 天野英樹、伊藤義也、松井啓夫、小川史洋、

原 英則、根津賢司、伊豫田明、佐藤之俊、
馬嶋正隆

腫瘍肺転移形成における AT1a シグナリン
グのメカニズムの解析, 炎症再生学会,
東京 2010 年 8 月 6 日 (P244)

<一般公演>

③ Amano, H., Fukui, T. Matsui, Y., Ito, Y.,
Kato, S., Ogawa, F., Kuroudu, N., Nezu, K.,
Iyoda, A., Satoh, Y., Majima, M.

Role of Angiotensin type 1a receptor
signaling on tumor metastasis formation
69th Annual Meeting of the Japanese Cancer
Association, Osaka 2010. 9. 23 (P135)

[その他]

ホームページ等
研究論文の掲載について北里大学薬理学の
ホームページに記載した。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

天野 英樹 (AMANO HIDEKI)
北里大学・医学部・助教
研究者番号：60296481