

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592068

研究課題名(和文)血管リモデリングにおけるマクロファージ低酸素応答性転写因子Hifの役割

研究課題名(英文)Role of macrophage-derived hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha as a mediator of

研究代表者

木下 肇(KINOSHITA, Hajime)

徳島大学・大学病院・特任助教

研究者番号：80611227

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：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。

低酸素刺激によって誘導されるマクロファージHif-1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。

研究成果の概要(英文)：In this study, we clarified the role of macrophage-derived hypoxia-inducible factor (HIF-1) in vascular remodeling. Wire-induced femoral arterial injury was inflicted in mice lacking the macrophage-specific HIF-1 gene and in their wild-type counterparts. The mutant mice showed both suppressed wire-induced neointimal thickening and decreased infiltration of inflammatory cells in the adventitia, compared to wild-type mice. Studies to clarify the mechanism of restrained vascular remodeling in the mutant mice revealed decreased production of pro-inflammatory cytokines by the activated macrophages and suppressed macrophage migration activity in the mutant mice. Gene expressions of the HIF-1-deficient macrophages positively correlated with the phenotypic profile of M2 macrophages and negatively correlated with that of M1 macrophages. Our results show that HIF-1 in macrophages plays a crucial role in promoting vascular inflammation and remodeling.

研究分野：胸部外科学

キーワード：血管リモデリング マクロファージ Hif

1. 研究開始当初の背景

動脈硬化やステント留置に伴う局所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、免疫細胞の酸素分圧への適応は、その病態生理を制御する上で大変重要な位置づけになると考えられる。しかしながら、血管リモデリングの病態に低酸素環境が免疫応答に与える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考慮されていない。

2. 研究の目的

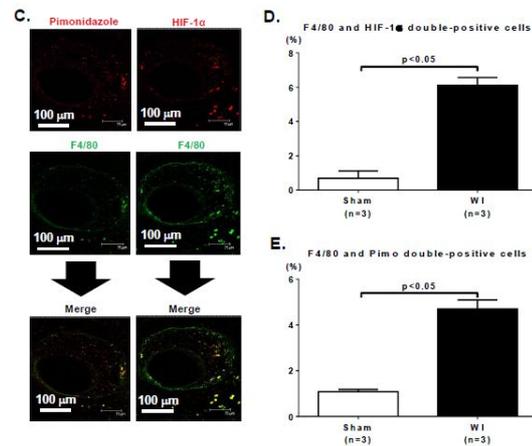
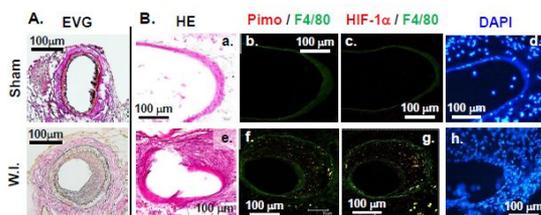
動脈硬化や血管新生など血管リモデリングに關与する細胞群の Hypoxia-inducible factor (HIF) がどのように機能し病態に關与するのかを分子レベルで理解するために、マクロファージ特異的に HIF-1 遺伝子を欠損した疾患モデルマウスを構築して、生理学的あるいは病態生理学的環境下に観られる HIF の機能解析を行った。

3. 研究の方法

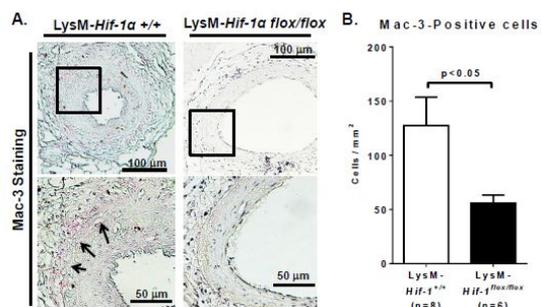
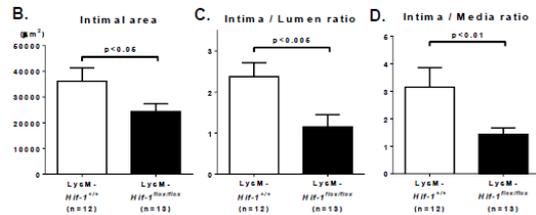
まず C57/BL6 マウスの下肢動脈傷害モデル (wire injury model; WIM) の局所に低酸素環境がみられ、Hif-1 が誘導されるか否かを評価した。次いで、マクロファージ特異的 Hif-1 ノックアウトマウス (LysM-Cre; Hif-1 flox/flox 以下 KO 群) の WIM を作製し血管リモデリングの過程における HIF の役割を組織学的に対照群 (LysM-Cre; Hif-1 +/+ 以下 Wild 群) と比較検討し、さらにマクロファージの動態を免疫組織学的に解析した。更に、これら *in vivo* の実験結果の病態メカニズムの解明のため、KO 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、KO 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。

4. 研究成果

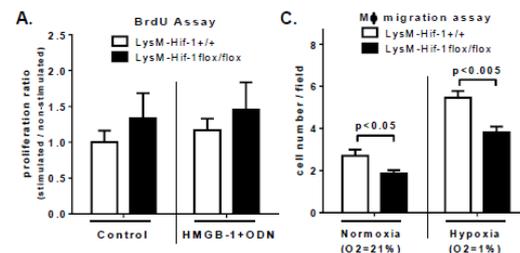
C57/BL6 マウスの WIM では、血管傷害誘発後 28 日目をピークに低酸素マーカーおよび HIF-1 の発現が血管周囲から肥厚した内膜に至るまで広く確認された。



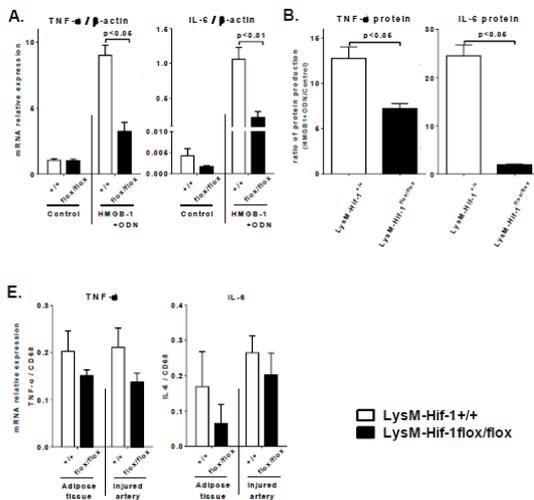
KO 群では、Wild 群に比較して血管傷害後に認められる新生内膜の増殖が有意に抑制され、また外膜周囲に浸潤するマクロファージの数も低下していた。



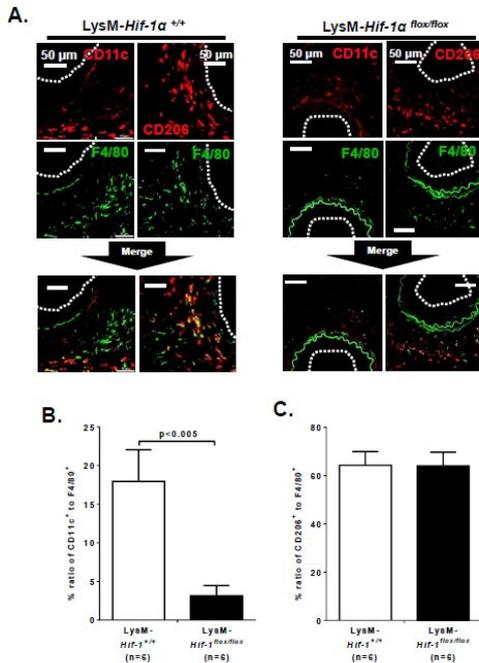
in vitro の解析では、マクロファージの増殖能に有意差を認めなかったが、KO 群で遊走能が有意に低下していた。



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。



K0 群のマクロファージでは極在が M2 系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 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 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。

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)
Taisuke Nakayama, Hirotsugu Kurobe,
Noriko Sugawara, Hajime Kinoshita,

Mayuko Higashida, Yuki Matsuoka,
Yasushi Yoshida, Yoichiro Hirata, Mie
Sakata, Mark Maxfield, Yousuke
Takahama, Masataka Sata, Toshiaki
Tamaki, Tetsuya Kitagawa and Shuhei
Tomita, Role of macrophage-derived
Hypoxia-Inducible Factor (HIF)-1 as
a mediator of vascular remodeling,
Cardiovasc Res、査読有、2013 Sep 1,
99(4)、705-715、doi:
10.1093/cvr/cvt146. Epub 2013
Jun10

Taisuke Nakayama, Hajime Kinoshita,
Mikio Sugano, Hirotsugu Kurobe,
Tamotsu Kanbara, Eiki Fujimoto,
Takashi Kitaichi, Hiroshi Fujita,
Hitoshi Sogabe, Tetsuya Kitagawa,
Delayed-onset severe heparin-induced
thrombocytopenia after total arch
replacement under cardiopulmonary
bypass, THE JOURNAL OF MEDICAL
INVESTIGATION、査読有、Vol.60
(No.1,2) 2013、154-158、
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jmi/60/1.2/60_154/_article

〔学会発表〕(計 2 2 件)

H. KUROBE, T. Motoki, Y. Hirata, M.
Sugano, T. Nakayama, H. Kinoshita,
T. Kanbara, E. Fujimoto, T. Kitaichi,
T. Hori, H. Sogabe, M. Sata, T. Kitagawa,
PPAR- Agonist Administration
Attenuates inflammation In Patients
With Aortic Aneurysm, AATS Aortic
Symposium 2014, April 24 25 2014,
New York Hilton Midtown (New York, NY,
USA)

Hajime kinoshita, Taisuke Nakayama,
Mikio Sugano, Hirotsugu Kurobe,
Tamotsu Kanbara, Eiki Fujimoto,
Takashi Kitaichi, Tetsuya Kitagawa,
The efficacy of endovascular
treatment for type B aortic dissection,
AATS Aortic Symposium 2014, April 24
25 2014, New York Hilton Midtown (New
York, NY, USA)

木下 肇, 中山泰介, 菅野幹雄, 黒部裕
嗣, 神原 保, 藤本鋭貴, 北市 隆, 北
川哲也, うっ滞性皮膚潰瘍を合併した下
肢静脈瘤に対して血管内レーザー焼灼
術の有効性、第 34 回日本静脈学会総会、
2014 年 4 月 17 日 18 日、万国津梁館、
ザ・ブセナテラスホテル(沖縄県・名護
市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木下 肇 (KINOSHITA, Hajime)
徳島大学・大学病院・特任助教
研究者番号：80611227

(2) 研究分担者

北川 哲也 (KITAGAWA, Tetsuya)
徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究
部・教授
研究者番号：80240886

北市 隆 (KITAICHI, Takashi)
徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究
部・准教授
研究者番号：20335813

菅野 幹雄 (SUGANO, Mikio)
徳島大学・大学病院・医員
研究者番号：70563807
(H24, H25)

中山 泰介 (NAKAYAMA, Taisuke)
徳島大学・大学病院・医員
研究者番号：80582791
(H24, H25)

黒部 裕嗣 (KUROBE, Hirotugu)
徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究
部・助教
研究者番号：30380083
(H26)

藤本 鋭貴 (FUJIMOTO, Eiki)
徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究

部・助教
研究者番号：60611225
(H26)

(3) 連携研究者
()

研究者番号：