

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860063

研究課題名(和文) HIF-1 によるレニン-アンジオテンシン系の制御が動脈硬化形成に及ぼす影響

研究課題名(英文) The effects of renin-angiotensin system control by HIF-1alpha in arteriosclerosis formation

研究代表者

石澤 啓介 (ISHIZAWA, Keisuke)

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：60398013

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：HIF-1 は細胞増殖、免疫機能調節などを制御し、様々な病態形成への関与が報告されている。一方、非低酸素圧下においてもangiotensin II (Ang II)などにより誘導されることが報告されている。我々は平滑筋特異的HIF-1 遺伝子欠損によりAng II誘発血管リモデリングが抑制されるという知見を得た。さらにAng IIによって誘導されるHIF-1 がAng II-AT1受容体シグナル自身を制御する可能性を見出した。従って、HIF-1 によるAng II-AT1受容体シグナルのフィードバック機構は血管リモデリング形成メカニズムにおいて重要な役割を果たす可能性があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) is a transcription factor which regulates expression levels of a lot of genes implicated in cell proliferation, differentiation, angiogenesis, and so on. Recently, several reports have shown that angiotensin II (Ang II) and cytokines can also induce HIF-1 without hypoxic condition, and thus some reports have suggested that HIF-1 plays crucial roles in chronic inflammation. We have elucidated that Ang II-induced vascular remodeling is suppressed by smooth muscle cell (SMC)-specific HIF-1 deficiency. In our study, we showed that SMC-derived HIF-1 contributes to Ang II-induced vascular smooth muscle cell migration, proliferation and hypertrophy, and vascular fibrosis. We suggested that Ang II-induced SMC-derived HIF-1 expression also contributes to activation of Ang II-AT1 receptor signaling axis. The feedback regulation by HIF-1 may play key roles in Ang II-AT1-induced vascular remodeling.

研究分野：薬理学

キーワード：血管リモデリング 動脈硬化 血管平滑筋 Hypoxia inducible factor アンジオテンシンII 酸化ストレス 血管内皮

1. 研究開始当初の背景

(1) 低酸素応答性転写因子-1

(hypoxia-inducible factor-1 : HIF-1) は低酸素刺激により増加し、血管新生、細胞分化、生体防御等の生理機能を制御し、癌・慢性炎症等の病態成立に關与する転写因子である。

(2) 研究代表者らは、平滑筋特異的 HIF-1 遺伝子欠損マウスにおいて、アンジオテンシン II (Ang II) による大動脈の中膜肥厚及び纖維化が軽減され、炎症性マーカー (MCP-1、CD68、F4/80、PAI-1、IL-1、IL-6、TNF-) の発現上昇が抑制されていることを見出した (American Heart Association Scientific Sessions 2012)

(3) Ang II は血管リモデリング病変部におけるアンジオテンシン II タイプ1受容体 (AT1R)、アンジオテンシノーゲン (AGT) 及びアンジオテンシン変換酵素 (ACE) といったレニン-アンジオテンシン系関連因子の発現を上昇させた。しかし大変興味深いことに、平滑筋特異的 HIF-1 遺伝子欠損マウスでは発現上昇が認められなかった

2. 研究の目的

HIF-1 によるレニン-アンジオテンシン系制御の包括的解析及びその病態生理学的意義を検討し、HIF-1 -レニン-アンジオテンシン系を標的とする新たな動脈硬化治療法開発に向けた基盤研究を行う。

3. 研究の方法

(1) 平滑筋特異的 HIF-1 遺伝子欠損マウスを用いて、Ang II の4週間持続皮下投与により血管リモデリングモデルを作製する。

(2) 血管のリモデリング評価及びレニンアンジオテンシン系の動態を評価する。

(3) 血管リモデリングにおける酸化ストレスを評価する。

(4) HIF-1 欠損血管平滑筋細胞におけるレニン アンジオテンシン系動態を解析する。

4. 研究成果

(1) 平滑筋細胞特異的に発現している SM22 を標的として Cre-loxP システムにより HIF-1 (flox/flox) SM22-Cre TG (+/-) マウス (SMKO) 及び HIF-1 (wild/wild) SM22-Cre TG (+/-) マウス (Control) を作成した。Control では Ang II 投与により大動脈の HIF-1 mRNA 発現およびタンパク発現上昇を認めたが、SMKO では認めなかった。

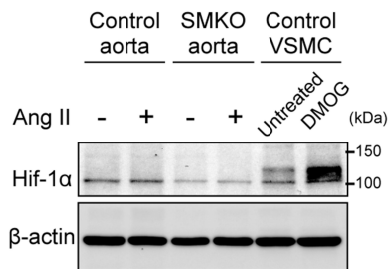


図1、大動脈における HIF-1 タンパク発現

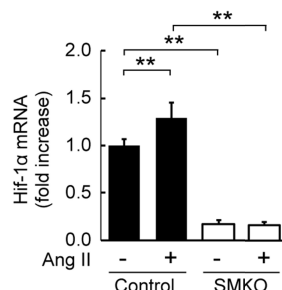


図2、大動脈における HIF-1 mRNA 発現

(2) Ang II による血管平滑筋細胞肥大は HIF-1 を介することが示唆された。

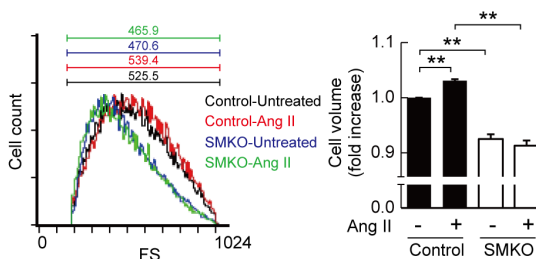


図3、Ang II による血管平滑筋細胞肥大に対する HIF-1 の関与

(3) 血管平滑筋細胞の HIF-1 は、線維化、血管平滑筋細胞肥大、炎症を介して Ang II 誘発血管リモデリングに關与することが示唆されたが、Ang II による酸化ストレス亢進にも關与する可能性が示唆された。

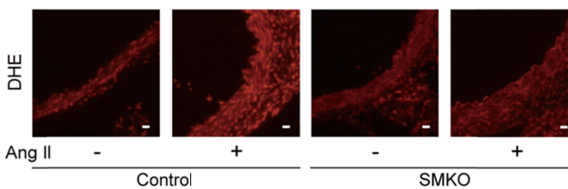


図4、平滑筋特異的 HIF-1 遺伝子欠損マウスでは、Ang II による酸化ストレス亢進が見られない

(4) 線維化関連遺伝子発現は、血管平滑筋細胞の HIF-1 を介して制御されている可能性が示唆された。

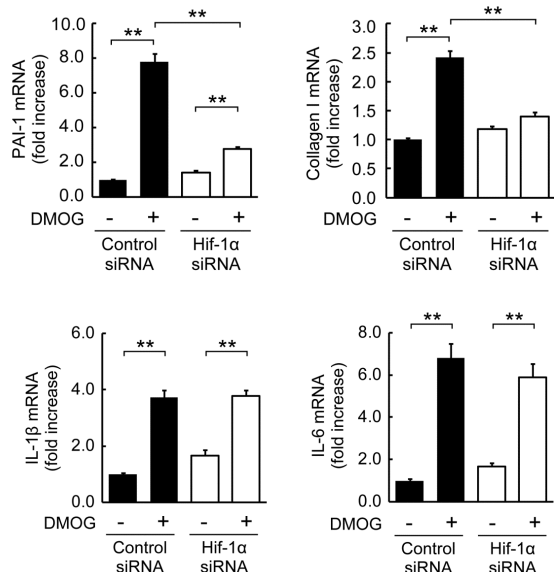


図 5、血管平滑筋細胞における線維化関連遺伝子発現および炎症性サイトカイン遺伝子発現に対する HIF-1 の関与

(5) Ang II 慢性持続投与条件下では、平滑筋特異的 HIF-1 遺伝子欠損は Ang II-AT1R-HIF-1 シグナル経路に影響する可能性が示唆された。

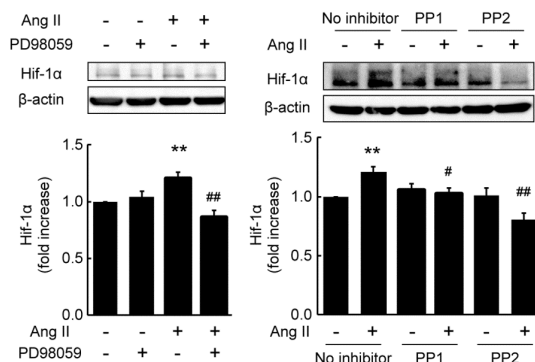


図 6、Ang II シグナル経路に対する平滑筋特異的 HIF-1 遺伝子欠損の影響

以上の成果より、生体内において血管平滑筋細胞の HIF-1 は、線維化、血管平滑筋細胞肥大、炎症を介して Ang II 誘発血管リモデリングに関与することが示唆された。さらに Ang II 慢性持続投与条件下では、平滑筋特異的 HIF-1 遺伝子欠損は Ang II-AT1R-HIF-1 シグナル経路に影響する可能性が示唆された。

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 8 件)

Keisuke Ishizawa, Yuki Izawa-Ishizawa, Noriko Yamano, Maki Urushihara, Takumi

Sakurada, Masaki Imanishi, Shoko Fujii, Asami Nuno, Licht Miyamoto, Yoshitaka Kihira, Yasumasa Ikeda, Shoji Kagami, Hiroyuki Kobori, Koichiro Tsuchiya, Toshiaki Tamaki, Nitrosonifedipine ameliorates the progression of type 2 diabetic nephropathy by exerting antioxidative effects, PLoS One, 査読有、9、2014、e86335

DOI: 10.1371/journal.pone.0086335

Yasumasa Ikeda, Iori Ozono, Soichiro Tajima, Mizuki Imao, Yuya Horinouchi, Yuki Izawa-Ishizawa, Yoshitaka Kihira, Licht Miyamoto, Keisuke Ishizawa, Koichiro Tsuchiya, Toshiaki Tamaki, Iron chelation by deferoxamine prevents renal interstitial fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction, PLoS One, 査読有、9、2014、e89355

DOI: 10.1371/journal.pone.0089355

Masaki Imanishi, Shuhei Tomita, Keisuke Ishizawa, Yoshitaka Kihira, Masaki Ueno, Yuki Izawa-Ishizawa, Yasumasa Ikeda, Noriko Yamano, Koichiro Tsuchiya, Toshiaki Tamaki, Smooth muscle cell specific Hif-1 deficiency suppresses angiotensin II-induced vascular remodeling in mice, Cardiovasc Res, 査読有、102、2014、460-468

DOI: 10.1093/cvr/cvu061

Yoshitaka Kihira, Mariko Miyake, Manami Hirata, Yoji Hoshina, Kana Kato, Hitoshi Shirakawa, Hiroshi Sakae, Noriko Yamano, Yuki Izawa-Ishizawa, Keisuke Ishizawa, Yasumasa Ikeda, Koichiro Tsuchiya, Toshiaki Tamaki, Shuhei Tomita, Deletion of hypoxia-inducible factor-1 in adipocytes enhances glucagon-like peptide-1 secretion and reduces adipose tissue inflammation, PLoS ONE, 査読有、9、2014、e93856

Yuko Imamura, Shuhei Tomita, Masaki Imanishi, Yoshitaka Kihira, Yasumasa Ikeda, Keisuke Ishizawa, Koichiro Tsuchiya, Toshiaki Tamaki, HIF-2 /ARNT complex regulates hair development via induction of p21^{Waf1/Cip1} and p27^{Kip1}, FASEB J, 査読有、28、2014、2517-2524

DOI: 10.1096/fj.13-244079

Masaki Imanishi, Keisuke Ishizawa, Takumi Sakurada, Yuki Izawa-Ishizawa, Noriko Yamano, Yoshitaka Kihira, Yasumasa Ikeda, Koichiro Tsuchiya, Toshiaki Tamaki, Drug development for cardiorenal disease based on oxidative stress control, Yakugaku Zasshi, 査読有、134、2014、715-719

DOI: http://doi.org/10.1248/yakushi.13-00255

-4

Yasumasa Ikeda, Soichiro Tajima, Yuki Izawa-Ishizawa, Yoshitaka Kihira, Keisuke

Ishizawa, Sumiko Yoshida, Ken-ichi Aihara, Koichiro Tsuchiya, Toshiaki Tamaki, Bovine milk-derived lactoferrin exerts proangiogenic effects in an Src-Akt-eNOS-dependent manner in response to ischemia, *J Cardiovasc Pharmacol*, 査読有, 61, 2013, 423-429

DOI: 10.1097/FJC.0b013e318287d526

Licht Miyamoto, Masashi Watanabe, Chiaki Taoka, Mai Kono, Yosuke Tomida, Tsuyoshi Matsushita, Masaki Kamiya, Hatsuhiro Hattori, Keisuke Ishizawa, Shinji Abe, Hisao Nemoto, Koichiro Tsuchiya, Conjugation to symmetrically branched glycerol trimer improves pharmacological and pharmacokinetic properties of fenofibrate, *Mol Pharmaceutics*, 査読有, 10, 2013, 2723-2729

DOI: 10.1021/mp400133j

〔学会発表〕(計 14 件)

戸谷紘基、石澤啓介、石澤有紀、小原佑介、長尾朋子、今西正樹、木平孝高、池田康将、土屋浩一郎、玉置俊晃、大動脈解離発症における血管内皮機能障害の関与、第 88 回日本薬理学会年会、2015.3.19、名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市)

石澤有紀、石澤啓介、長尾朋子、戸谷紘基、小原佑介、細岡真由子、高田真衣、木平孝高、池田康将、土屋浩一郎、玉置俊晃、新規薬剤誘発性大動脈解離モデルを用いたスタチンの効果の検討、第 24 回 循環薬理学会、2014.12.5、山形テルサ (山形県・山形市)

Keisuke Ishizawa, Yusuke Kohara, Tamkumi Sakurada, Hiroki Toya, Yutaka Iki, Yuki Izawa-Ishizawa, Yoshitaka Kihira, Yasumasa Ikeda, Koichiro Tsuchiya, Toshiaki Tamaki, Nitrosonifedipine ameliorates the progression of aortic aneurysms by exerting antioxidative effects, *European Society of Cardiology Congress 2014*, 2014.9.1, Barcelona (スペインバルセロナ)

戸谷紘基、石澤啓介、小原佑介、長尾朋子、石澤有紀、木平孝高、池田康将、土屋浩一郎、玉置俊晃、血管内皮障害を介する新規大動脈解離モデルの作製、次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2014, 2014.8.30、近畿大学東大阪キャンパス (大阪府・東大阪市)

小原佑介、石澤啓介、櫻田巧、戸谷紘基、長尾朋子、壺岐豊、石澤有紀、木平孝高、池田康将、土屋浩一郎、玉置俊晃、薬剤誘導性大動脈瘤モデルに対するニトロソニフェジピンの効果、第 125 回日本薬理学会近畿部会、2014.6.20、岡山コンベンションセンター (岡山県・岡山市)

今西正樹、富田修平、石澤啓介、木平孝高、石澤有紀、池田康将、山野範子、土屋浩一郎、玉置俊晃、血管リモデリングにおける

低酸素誘導因子 HIF-1 の役割、日本薬学会第 134 年会、2014.3.29、熊本大学 (熊本県・熊本市)

今西正樹、富田修平、黒部裕嗣、石澤啓介、木平孝高、池田康将、山野範子、石澤有紀、土屋浩一郎、玉置俊晃、薬剤誘導性大動脈瘤モデルにおける平滑筋由来

hypoxia-inducible factor-1 の役割、第 23 回日本循環薬理学会、2013.12.6、福岡大学 (福岡県・福岡市)

木平孝高、富田修平、山野範子、石澤有紀、石澤啓介、池田康将、土屋浩一郎、玉置俊晃、肥満に伴う脂肪組織炎症に対する低酸素誘導因子の役割、第 124 回日本薬理学会近畿部会、2013.11.1、京都ガーデンパレス (京都府・京都市)

鈴木雄太、今西正樹、富田修平、石澤啓介、木平孝高、池田康将、山野範子、石澤有紀、土屋浩一郎、玉置俊晃、平滑筋由来 HIF-1

がアンジオテンシン II 誘発血管リモデリングに關与するメカニズム、第 52 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会、2013.10.27、松山大学 (愛媛県・松山市)

村上正樹、前田悠作、富田修平、今西正樹、木平孝高、石澤啓介、山野範子、石澤有紀、池田康将、土屋浩一郎、玉置俊晃、血管傷害モデルに伴う血管リモデリングにおける骨髄由来細胞の HIF1 の役割、第 52 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会、2013.10.27、松山大学 (愛媛県・松山市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石澤 啓介 (ISHIZAWA, Keisuke)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号: 60398013