

若手研究者育成支援費に係る研究成果報告（ホームページ用）

	(所 属)	(職 名・学 年)	(氏 名)
研究者	循環器内科	助教	池田 宏二
研究の 名称	新規遺伝子ARIAの血管発生、血管新生における役割の解明		
研究のキ ーワード	血管新生、血管内皮細胞、血管新生療法		
研究の 概要	<p>私達は血管新生、血管発生を制御する新しい遺伝子の単離を試み、血管内皮細胞のアポトーシスを制御する新規遺伝子ARIAを世界に先駆けて発見した (<i>Proc Natl Acad Sci USA</i> (106) 2009)。ARIAは血管内皮細胞に高く発現しており、細胞生存に重要な分子であるcIAP-1,cIAP-2のプロテアソームにおける分解を調節することで血管内皮細胞のアポトーシスを制御し、その結果、血管新生をコントロールしていることを明らかとした。本研究では私達が最近作成したARIAノックアウト(KO)マウスを用いてARIAによる虚血誘導性血管新生の制御を詳細に解析し、将来の新しい血管新生療法の開発に向けた基礎データを収集する。ARIAは私達が発見した新規遺伝子であり、ARIA-KOマウスも現時点では私達しか持っていないと考えられるため、本研究は私達にしか行うことのできない極めて独創的な研究である。</p>		
研究の 背景	<p>脳梗塞、心筋梗塞や閉塞性動脈硬化症といった虚血性疾患は日本人の主要な死亡原因であるだけでなく罹患後の生活の質を著しく低下させる疾患群である。血管の狭窄や閉塞により組織が虚血に陥ると血管内皮増殖因子などが分泌されて既存の血管から内皮細胞が虚血部位に遊走、増殖して新しい血管が形成される（血管新生）。さらに骨髄から血管内皮前駆細胞(EPC)が動員され、虚血部位で血管内皮細胞に分化して新しい血管を生み出す(血管発生)ことが最近知られている。しかしながら大血管の急性閉塞では生理的な血管新生、血管発生では十分な血流が回復できず、組織が壊死に陥る。そこで人為的に血管新生、血管発生を増強して虚血組織を救済する治療法の開発が盛んに行われている。私達の教室でも世界に先駆けて、自家骨髄単核球移植による重症下肢</p>		

	<p>虚血の治療を行っているが、未だその治療効果は十分満足できるものではなく、新しい知見に基づく新規治療法の開発が急務である。</p>																		
<p>研究手法</p>	<p>ARIAによる虚血誘導性血管新生の制御を解析するために大腿動脈結紮にてASOモデルを作成し、虚血下肢における血管新生をARIA-KOおよび野生型マウス間で比較検討する。具体的にはレーザードップラー法にて虚血下肢の血流を経時的に測定し、2週間後に虚血大腿筋を摘出して毛細血管数と血管内皮アポトーシスをそれぞれ免疫染色とTUNEL染色で評価する。</p>																		
<p>研究の進捗状況と成果</p>	<p>ARIA-KOマウスは胎生致死になることなくホモノックアウトマウスが得られた。ARIA-KOマウスの心臓および肺におけるcIAP-1,cIAP-2の発現を検討したところ野生型に比べて有意に増加していた。この結果からARIAは生体内においてcIAP-1,cIAP-2の発現調節に関わることを確認した。さらにARIA-KOマウスの大動脈から血管内皮細胞を単離してその内皮機能を調べたところ、ARIA-KOマウス由来の内皮細胞ではアポトーシスが抑制され、管腔形成能は亢進していた。虚血誘導性血管新生を片側下肢虚血モデル(ASOモデル)を作成して検討したところ、図に示すようにARIA-KOマウスでは虚血誘導性血管新生が著明に亢進していた。</p> <div data-bbox="427 1167 1348 1727" style="text-align: center;"> <p>The figure consists of two parts. On the left, a 4x2 grid of laser Doppler flowmetry images shows the lower limb blood flow in wild-type (野生型) and ARIA-KO mice at four time points: post surgery, day 3, day 7, and day 14. Red arrows point to the ischemic limb in the ARIA-KO mice at post surgery and day 3. On the right, a line graph plots the lower limb blood flow (ischemia/control) on the y-axis (ranging from 0.5 to 1.0) against time on the x-axis (Pre, Post, Day 3, Day 7, Day 14). Two lines are shown: a black line for ARIA-KO mice and a green line for wild-type mice. Both lines start at 1.0 at the 'Pre' time point. At 'Post', both drop to approximately 0.3. At 'Day 3', the ARIA-KO line is at ~0.4 and the wild-type line is at ~0.35. At 'Day 7', the ARIA-KO line is at ~0.7 and the wild-type line is at ~0.45. At 'Day 14', the ARIA-KO line is at ~0.9 and the wild-type line is at ~0.6. Asterisks indicate statistical significance (p < 0.00001) for the ARIA-KO group at Day 7 and Day 14.</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <caption>Lower limb blood flow (ischemia/control)</caption> <thead> <tr> <th>Time Point</th> <th>ARIA-KO Mice</th> <th>Wild-type Mice</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Pre</td> <td>1.0</td> <td>1.0</td> </tr> <tr> <td>Post</td> <td>~0.3</td> <td>~0.3</td> </tr> <tr> <td>Day 3</td> <td>~0.4</td> <td>~0.35</td> </tr> <tr> <td>Day 7</td> <td>~0.7</td> <td>~0.45</td> </tr> <tr> <td>Day 14</td> <td>~0.9</td> <td>~0.6</td> </tr> </tbody> </table> <p>* : p < 0.00001</p> </div>	Time Point	ARIA-KO Mice	Wild-type Mice	Pre	1.0	1.0	Post	~0.3	~0.3	Day 3	~0.4	~0.35	Day 7	~0.7	~0.45	Day 14	~0.9	~0.6
Time Point	ARIA-KO Mice	Wild-type Mice																	
Pre	1.0	1.0																	
Post	~0.3	~0.3																	
Day 3	~0.4	~0.35																	
Day 7	~0.7	~0.45																	
Day 14	~0.9	~0.6																	

地域への研究成果の還元状況	現時点ではその成果を還元できるところまで到達できていない。将来的には私達の教室で実際に行っている自家骨髄単核球移植による血管新生療法とARIAの機能抑制を組み合わせたハイブリッド療法を臨床応用し、より高い治療効果を実現させたいと考えている。
今後の期待	これまでの検討で私達はARIAが生体内においても血管内皮細胞のアポトーシスを制御し、虚血誘導性血管新生を著しく促進させることを見いだした。今後はARIAの発現調節機構やARIAの機能を抑制する化合物のスクリーニングを行い、人為的にARIAの機能を調節することを目標とした研究も開始する。ARIAの機能を人為的に調節できれば血管新生療法への応用が可能となり、全く新しい血管新生療法の誕生が期待される。
研究発表	現時点における研究成果について平成21年11月にアメリカ心臓学会(American Heart Association)で、平成22年3月に日本循環器学会総会で発表した。