

論 文 内 容 要 旨

題目 Overexpressed HIF-2 $\alpha$  in Endothelial Cells Promotes Vascularization and Improves Random Pattern Skin Flap Survival

(血管内皮細胞における低酸素応答性転写因子 HIF-2 $\alpha$  の強制発現は血管新生を促進し無軸型皮弁の生存域を改善する)

著者 Atsushi Morimoto, Shuhei Tomita, Masaki Imanishi, Go Shioi, Yoshitaka Kihira, Yuki Izawa-Ishizawa, Mitsuru Takaku, Ichiro Hashimoto, Yasumasa Ikeda, Hideki Nakanishi, Toshiaki Tamaki

平成 26 年発行 Plastic and Reconstructive Surgery – Global Open  
発表予定

内容要旨

局所皮弁は形成外科領域において最も一般的な皮膚再建方法の一つであるが、時に重度の血流障害による皮弁壊死をきたす。皮弁壊死は、皮膚欠損創を覆うために最も重要な皮弁の先端に生じることがほとんどであり、治療期間の延長や二次的な手術を要する原因となる。それゆえ、皮弁壊死予防の研究は臨床的な意義を持つが、未だに臨床応用されている薬剤や確立された手法はない。

今回我々は、皮弁の壊死領域が虚血による低酸素状態に陥っていると仮定して、血管新生に必須である血管内皮細胞と、細胞の低酸素応答における中心的役割を持つ、低酸素応答性転写因子 (Hypoxia inducible factor: 以下 HIF と略す) を研究対象とした。HIF は低酸素環境下における血管新生・細胞生存・代謝などに関わる多くの因子の発現を直接調節していることが報告されている。また、血管内皮細胞において発現する HIF は、HIF-2 $\alpha$  が大半を占めることが知られており、血管内皮の機能維持と血管新生の促進に重要であるとされている。しかし、HIF-2 $\alpha$  の血管内皮における役割はよく解っていない。

本研究では、低酸素環境下で血管内皮特異的に HIF-2 $\alpha$  を強制発現する遺伝子改変マウス (以下 Tg マウスと略す) を作製・飼育して実験に用いた。まず、目的遺伝子が導入されていることを real-time RT-PCR 法で確認し、同系の野生型マウスをコントロールとして使用した。

Tg マウスと野生型マウスの背部に 1×3cm の random pattern flap を作製・拳

## 様式(8)

上し、速やかに同部位へ戻して縫着した。継時的に皮弁を観察して皮弁近位の組織を採取し、real-time RT-PCRとWestern blottingによりHIF-2 $\alpha$ のmRNA発現量とタンパク発現量をそれぞれ評価した。また、蛍光免疫染色法を用いて、血管新生の形態的評価を行った。

術後7日目における皮弁の生存領域は、野生型マウス群(45.7%)と比較してTgマウス群で有意に拡大(72.0%)していた。また、HIF-2 $\alpha$ のmRNA発現量、タンパク発現量も術後7日目に有意な上昇を認めた。蛍光免疫染色法では、血管数の有意な増加を認めた。

以上の結果から、Tgマウスでは、虚血による低酸素環境下において血管内皮細胞からHIF-2 $\alpha$ が発現増加することにより、血管新生を促進して皮弁の生存領域を拡大することが示唆された。このTgマウスの開発・研究をさらに進めることにより、血管新生の機序をより詳細に解析することができ、ひいては創傷治癒モデルとして種々の研究に応用できる可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

|      |                                  |    |       |
|------|----------------------------------|----|-------|
| 報告番号 | 甲医第 1206号                        | 氏名 | 森本 篤志 |
| 審査委員 | 主査 佐々木 卓也<br>副査 丹黒 章<br>副査 久保 宜明 |    |       |

題目 Overexpressed HIF-2 $\alpha$  in Endothelial Cells Promotes Vascularization and Improves Random Pattern Skin Flap Survival

(血管内皮細胞における低酸素応答性転写因子 HIF-2 $\alpha$  の強制発現は血管新生を促進し無軸型皮弁の生存域を改善する)

著者 Atsushi Morimoto, Shuhei Tomita, Masaki Imanishi, Go Shioi, Yoshitaka Kihira, Yuki Izawa-Ishizawa, Mitsuru Takaku, Ichiro Hashimoto, Yasumasa Ikeda, Hideki Nakanishi, Toshiaki Tamaki  
 平成 26 年発行 Plastic and Reconstructive Surgery – Global Open  
 発表予定  
 (主任教授 中西秀樹)

要旨 局所皮弁は形成外科領域において最も一般的な皮膚再建方法の一つであるが、時に重度の血流障害による皮弁壊死をきたす。以前より申請者の研究室では、皮弁の壊死領域が虚血による低酸素状態に陥っていることに着目し、細胞の低酸素応答における中心的役割を持つ、低酸素応答性転写因子 (Hypoxia inducible factor : 以下 HIF と略す) を研究対象としてきた。今回は、局所での HIF 活性化が皮弁生存にもたらす効果を検証するために、血管新生に必須である血管内皮細胞と、血管内皮細胞に多く発現する HIF-2 $\alpha$  に着目した。

本研究では、血管内皮特異的に HIF-2 $\alpha$  を強制発現する遺伝子改変マウス (以下 Tg マウスと略す) に低酸素環境下で虚血皮弁を

作製し、皮弁の生着率、HIF-2 $\alpha$  の mRNA 発現量、タンパク発現量および血管数の形態評価を行った。

得られた結果は以下の通りである。

1. Tg マウスに目的遺伝子が導入されていることを real-time RT-PCR 法で確認した。
2. 術後 7 日目における皮弁の生存領域は、野生型マウス群 (45.7%) と比較して Tg マウス群で有意に拡大 (72.0%) していた ( $P<0.001$ )。
3. 術後 7 日目における HIF-2 $\alpha$  の mRNA 発現量、タンパク発現量も Tg マウス群で有意な上昇を認めた。
4. 蛍光免疫染色法では、術前の血管数に 2 群間の差はなく、術後 7 日目の Tg マウス群において血管数の有意な増加を認めた ( $P<0.001$ )。

以上の結果から、Tg マウスでは、虚血による低酸素環境下において血管内皮細胞から HIF-2 $\alpha$  が発現増加することにより、血管新生を促進して皮弁の生存領域を拡大することが示唆された。この Tg マウスを用いた研究をさらに進めることにより、血管新生の機序をより詳細に解析することができ、ひいては創傷治癒モデルとして種々の研究に応用できる可能性が示唆された。

本研究は、血管内皮細胞と HIF-2 $\alpha$  の機能解析を基にした、皮弁壊死を救済する治療法開発に関する重要な研究であり、学位授与に値すると判定した。