



Title	Endothelial activating transcription factor 3 promotes angiogenesis and vascular repair in the mouse retina
Author(s)	上田, 千尋
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101838
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	上田 千尋
論文題名 Title	Endothelial activating transcription factor 3 promotes angiogenesis and vascular repair in the mouse retina (血管内皮細胞に発現する <i>ATF3</i> はマウス網膜において血管新生と血管修復を促進する)
論文内容の要旨	
〔目的(Objective)〕 Activating Transcription Factor 3(<i>ATF3</i>)はATF/CREBファミリーに属するストレス応答転写因子であり、代謝や免疫恒常性の維持、腫瘍形成に関与している。一方で、血管内皮細胞においては血管再生への関与が報告されているものの、血管新生における具体的な役割は十分に解明されていない。本研究では、 <i>ATF3</i> の網膜における生理的血管新生および虚血性網膜症 (OIR) モデルでの血管新生に果たす役割を検討した。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 C57BL/6マウスの網膜血管発生期の網膜フラットマウント免疫染色により、血管内皮細胞に一致する <i>ATF3</i> の染色像を認め、網膜血管内皮細胞における <i>ATF3</i> の局在を確認した。また、RT-qPCRにて網膜血管発生期、OIRモデルの血管新生期の網膜血管内皮細胞の <i>ATF3</i> の発現がコントロール群と比較し有意に上昇していることが明らかとなった。続いてヒト網膜血管内皮細胞 (HRMECs) のVEGF刺激による発現変化をRT-qPCRにて解析したところ、VEGF刺激後に <i>ATF3</i> の発現が増加した。さらに、 <i>ATF3</i> をノックダウンしたHRMECs (<i>ATF3</i> KD HRMECs) を用いた血管新生アッセイでは、血管密度が有意に減少した。これにより、VEGF刺激で誘導される <i>ATF3</i> は、その発現が減少すると <i>in vitro</i> での血管新生が阻害されることが示唆された。次に <i>in vivo</i> での血管内皮細胞における <i>ATF3</i> の機能を評価するために、血管内皮特異的 <i>ATF3</i> ノックアウト (<i>Atf3</i> iECKO) マウスを作製した。免疫組織学的に解析を行なった結果、 <i>Atf3</i> iECKOマウスの網膜血管発生期において、血管伸長部での内皮細胞の増殖能の低下、血管伸長のガイドとなる先端細胞 (tip cell) 数の減少および血管伸長の遅延を認め、正常な血管発達が阻害されることが示された。さらにOIRモデルでは、血管新生期、新生血管退縮期において病的新生血管形成には影響がなかったが、無血管野が拡大し血管修復が遅延した。最後に <i>ATF3</i> が血管新生に影響を与えるメカニズムを明らかにするために、OIRモデルのC57BL/6マウスより単離した網膜血管内皮細胞を用いてsingle-cell RNA sequencing (RNA-seq) を実施し、血管内皮細胞のクラスターに属する細胞を <i>ATF3</i> 陽性細胞と陰性細胞に分別した。 <i>ATF3</i> 陽性血管内皮細胞では血管新生を誘導するRasタンパク質関連遺伝子群が高発現していることがGene Ontology解析により示された。加えて、single-cell RNA-seqの <i>ATF3</i> 陰性血管内皮細胞と <i>ATF3</i> KD HRMECsのbulk RNA-seqを比較解析したところ、VEGF-VEGFR2シグナル因子を含む複数の血管新生関連因子が共通して発現低下することが明らかとなった。	
〔総括(Conclusion)〕 <i>ATF3</i> は血管内皮細胞の増殖を促進することで、血管内皮細胞の再生のみならず、生理的血管新生およびOIRモデルにおける血管修復にも関与することが示された。また、 <i>ATF3</i> がVEGF-VEGFR2シグナル伝達経路やRasシグナル伝達経路を介して血管新生を制御している可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 上田 千尋				
論文審査担当者	(職)	氏 名		
	主 査	大阪大学教授	西田 幸二	署 名
	副 査	大阪大学教授	高倉 伸幸	署 名
	副 査	大阪大学教授	高 島 武 二	署 名

論文審査の結果の要旨

審査論文では転写因子ATF3がマウス網膜において生理的血管新生と病的モデルにおける血管修復に果たす役割を明らかにすることを目的とした。

マウスの網膜血管発生期、虚血性網膜症（OIR）モデルの網膜血管内皮細胞では、コントロール群と比較し血管内皮細胞でのATF3の発現が有意に上昇した。またATF3をノックダウンしたHRMEC（ATF3KO-HRMECs）を用いた血管新生アッセイでは、血管密度が有意に減少した。血管内皮特異的ATF3ノックアウト（ATF3iECKO）マウスの網膜フラットマウント免疫染色では、網膜血管発生期において正常な血管発生が阻害され、OIRマウスの血管新生期では無血管野が拡大した。さらにOIRマウスの網膜血管内皮細胞のsingle-cell RNA sequencing（RNA-seq）を実施し、ATF3陽性細胞と陰性細胞に分別した。Gene Ontology解析によりATF3陽性血管内皮細胞では血管新生を誘導するRasタンパク質関連遺伝子群が高発現していることが示された。加えて、single-cell RNA-seqのATF3陰性血管内皮細胞とATF3KD HRMECsのbulk RNA-seqを比較解析したところ、VEGF-VEGFR2シグナル因子を含む複数の血管新生関連因子が共通して発現低下することが明らかとなった。

本論文ではATF3が既報の血管内皮の再生だけではなく、血管新生を促進する重要な因子であることを明らかにしたものであり、学位に値するものと認める。