OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	In Vivo Evidence of Angiogenesis Induced by Transcription Factor Ets-1 Ets-1 Is Located Upstream of Angiogenesis Cascade
Author(s)	橋弥, 尚孝
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45506
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	橋弥尚孝（はしやなおたか）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 18974 号
学位授与年月日	平成16年7月14日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	In Vivo Evidence of Angiogenesis Induced by Transcription Factor Ets-1 Ets-1 Is Located Upstream of Angiogenesis Cascade （転写因子 Ets-1 の vivo における血管新生効果）
論文審査委員	（主査） 教授 荻原 俊男 （副査） 教授 高井 義美　教授 竹田 潤二

論文内容の要旨

〔目的〕

新生血管の発達は既存血管の内皮細胞が Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)、basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)、Hepatocyte Growth Factor (HGF) などの血管新生因子により活性化される事により始まる。その際、血管内皮細胞は様々な遺伝子を発現するため、これらの遺伝子の転写調節の理解が重要となる。転写因子 Ets-1 は血管新生の際に内皮細胞に発現する事が知られており、Ets ファミリーは collagenase 1、stromelysine 1、urokinase plasminogen activator など細胞外基質分解に関わっている酵素の転写活性を司っていると考えられている。又最近の研究では integrin $\beta 3$ と VE-cadherin が Ets-1 の下流にある事も明らかになっている。更に Flt-1、KDR、TIE-1、TIE-2 等のレセプターがそのプロモーター領域に Ets-1 binding motif を有している事も明らかになっている。以上の点より、Ets-1 は血管新生に関わる様々な遺伝子の転写調節を行う事により、血管新生に大きく関与していると考えられるが、Ets-1 遺伝子の導入が in vivo で血管新生を促進させるか否かについて検討した報告は未だない。本研究では Ets-1 遺伝子導入が虚血性疾患モデルに及ぼす影響について、その機序と共に、ラットとマウスの下肢虚血モデルを用いて検討を行った。

〔方法ならびに成績〕

ラット大腿動脈を結紮し、ラット下肢虚血モデルを作成した。モデル作成7日後に HGF または Ets-1 の naked plasmid を下肢筋肉に注射により導入し、4週間後にレーザードップラーと capillary density による血流増加・血管新生の評価を行った。HGF 遺伝子導入群では有意な血管新生を認めたにも関わらず、Ets-1 遺伝子導入群では明らかな血流増加・血管新生は認められなかった。その理由としては分泌蛋白である HGF と異なり、Ets-1 は低い導入効率では有意な血管新生が起きない可能性が考えられた。そこで HVJ-liposome 法を用いて Ets-1 遺伝子の導入を行ったところ、コントロール群に比して有意な血流増加が Ets-1 遺伝子導入群で認められた。また HGF と Ets-1 の共導入群においては血管新生効果の更なる増強が認められた。血流増加の機序としては、プロモーター領域に Ets の binding site を有する血管新生因子、肝細胞増殖因子（HGF ; Hepatocyte Growth Factor）と血管内皮細胞増殖因子（VEGF ; Vascular Endothelial Growth Factor）に着目した。Ets-1 の導入により、ラットの虚血下肢における HGF

と VEGF の組織蛋白濃度の上昇が認められた。またヒトの aortic VSMC を用いた vitro の実験系においても HVJ-liposome 法による Ets-1、HGF の導入により上清の HGF、VEGF 蛋白濃度の上昇を認めた。更にマウスの下肢虚血モデルを用いた実験では HGF と VEGF の中和抗体を投与することにより、Ets-1 遺伝子の過剰発現による血管新生効果の減弱を認めた。これにより Ets-1 遺伝子導入による血管新生効果には血管新生因子である HGF と VEGF の関与が大きいと考えられた。

〔総括〕

血管内皮細胞に発現し血管新生を調節する様々な因子が、Ets-1 による調節を受けている事より、Ets-1 が血管新生において重要な役割を担っていると考えられていた。今回の研究では Ets-1 遺伝子の導入が、vivo において血管新生効果を有する事が明らかとなり、更には Ets-1 のもたらす血管新生効果の機序として、HGF、VEGF が強く関与している可能性が示唆された。以上より、転写因子 Ets-1 の遺伝子導入が虚血性疾患の新しい治療法となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

虚血性疾患の治療として、治療的血管新生（Therapeutic Angiogenesis）の概念は既に 20 数年前より提唱されてきた。近年の分子生物学・遺伝子工学の進歩により、血管新生因子 Vascular Endothelial Growth Factor（VEGF）、basic Fibroblast Growth Factor（bFGF）、Hepatocyte Growth Factor（HGF）などを用いた protein therapy、gene therapy の可能性が注目され、欧米を中心に日本でも既に臨床の場でその有用性が検討されている。本研究は、さらに強力な新しい血管新生療法のターゲット遺伝子として転写因子 Ets-1 に注目したものである。転写因子 Ets-1 は VEGF、HGF などの血管新生因子によりその活性化が誘導され、血管新生のメカニズムにおいて非常に重要な役割を果たしている。本研究では Ets-1 遺伝子の導入が、in vivo において血管新生効果を有する事が明らかとなり、さらに Ets-1 のもたらす血管新生効果の機序として、その活性化により誘導される血管新生因子 HGF、VEGF が強く関与している可能性が示唆された。すなわち血管新生のメカニズムにおいて Ets-1 を中心とした血管新生因子との interaction が確認され、転写因子 *ets-1* 遺伝子導入が虚血性疾患の新しい治療法となりうる可能性が示唆された。本研究は転写因子 Ets-1 の新たな治療的側面に関する知見を提示するものであり、学位の授与に値すると考える。