

## 難治性血管疾患の病態解明

国立循環器病研究センター先端医療技術開発部・室長 山城 義人



血管内皮細胞が間葉系細胞へと分化転換するプロセス（内皮間葉転換：EndMT）は、難治性血管疾患のさまざまな血管リモデリングに関与することが知られています。しかし、血管狭窄の原因となる新生内膜におけるEndMTの役割と分子制御機構はこれまで明らかにされていませんでした。本研究では、マウス頸動脈結紮モデルを用いて、頸動脈が狭窄する過程で、内皮細胞が新生内膜に寄与することを見出し、内皮細胞の性質を維持したままの「部分的な内皮間葉転換：partial EndMT」を観察することに成功しました。

本研究グループはまず、8週齢のマウスに頸動脈結紮を施行し、新生内膜形成による血管狭窄のプロセスを経時観察しました。狭窄初期の術後1週間では、内皮細胞に間葉系細胞のマーカである $\alpha$ -SMA（alpha-smooth muscle actin）と内皮細胞のマーカであるPECAM（platelet and endothelial cell adhesion molecule 1）が共発現すると共に、血球細胞マーカであるCD45（protein tyrosine phosphatase receptor type C）が発現していることを観察しました。狭窄が起き始める術後2-3週になると、 $\alpha$ -SMAだけでなく、PECAMが新生内膜細胞に発現していることを観察しました。また、結紮した頸動脈では、TGF- $\beta$ シグナルが亢進していることから、EndMTが新生内膜の形成に寄与している可能性が示唆されました。次に、新生内膜細胞の起源と内皮細胞との関連性を精査するために、内皮細胞系譜解析システム（VE-Cadherin(*Cdh5*)-BAC-Cre<sup>ERT2</sup>-LSL-EGFPマウス）を用いて頸動脈結紮を行い、蛍光標識された内在性内皮細胞（residential EC）が狭窄のプロセスでどこに局在するのかを解析しました。その結果、新生内膜細胞がEGFPで標識されることから、residential ECが新生内膜に寄与し血管狭窄の原因であることが強く示唆されました。

さらに、ヒト動脈内皮細胞を用いた解析により、塩化コバルトやVHL（*Von Hippel-Lindau*）阻害薬を用いたHIF（hypoxia inducible factor）の安定化や低酸素チャンバー（1% O<sub>2</sub>）を用いた低酸素誘導がCD45発現を伴うEndMTを誘導することを明らかにしました。加えて、CD45の脱リン酸化酵素活性依存的に、細胞膜上のintegrin  $\alpha$ 11の誘導とintegrin  $\beta$ 1 内因性阻害タンパク質であるSHARPIN（SHANK associated RH domain interactor）との複合体形成が促進されることで、内皮細胞-細胞間接着が維持され、partial EndMTの保持に重要であることを明らかにしました。内皮細胞特異的な*Hif1 $\alpha$* 欠損マウスでは、新生内膜形成が抑制されることから、血管狭窄の発症に低酸素応答シグナルが関与していることを明らかにしました。

本研究は、血管狭窄の原因となる新生内膜の由来が、内皮細胞であることを同定し、EndMTが血管狭窄時の血管リモデリングに寄与することを明らかにしました（図）。今後、partial EndMTの詳細なメカニズムや、EndMTを標的とした血管狭窄の新たな治療法開発の展開が期待されます。

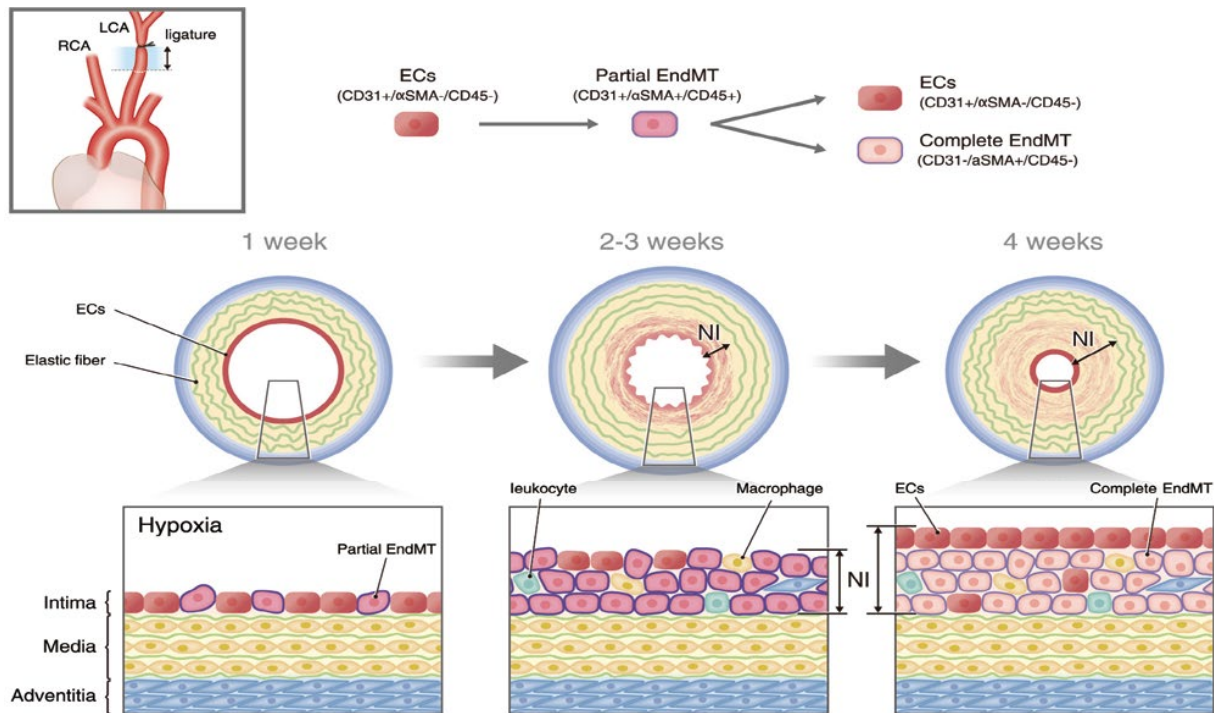


図 頸動脈結紮時における血管狭窄の原因となる新生内膜形成の概略

頸動脈結紮後の狭窄の進行度合いと内皮細胞の関与。術後1週間でIntima（内膜）内の内皮細胞において、部分的な内皮間葉転換（partial EndMT：CD31<sup>+</sup>/αSMA<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>）が観察され、2-3週間で新生内膜細胞が増殖し、4週間程度で新生内膜が形成される。（左上枠内）左総頸動脈（LCA）を糸で完全結紮（ligation）することにより血流を停止させる頸動脈結紮モデル。右総頸動脈（RCA）は結紮しないため、比較対象として使用する。術後、心臓側の部位（両矢印部分：水色）を採取して解析に用いる。

【掲載論文名】

Partial endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT) mediated by HIF-induced CD45 in neointima formation upon carotid artery ligation.

【著者名】 Yoshito Yamashiro, Karina Ramirez, Kazuaki Nagayama, Naoko Hattori, Yu-Yu Liu, Shinji Matsunaga, Shuhei Tomita, Yoshiaki Kubota and Hiromi Yanagisawa

【掲載誌】 Cardiovascular Research

【掲載日】 2022年12月20日