

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：32701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K20452

研究課題名（和文）放射線誘導性一酸化窒素による血管内皮細胞老化機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of radiation-induced nitric oxide-induced aging of vascular endothelial cells

研究代表者

永根 大幹（Nagane, Masaki）

麻布大学・獣医学部・講師

研究者番号：10772064

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：放射線による心疾患は致死性が高く、放射線治療と被ばく管理において重要な課題となる。また、放射線による心血管疾患に、血管内皮細胞の細胞老化が深く関わると考えられるが、その分子機構は不明である。本研究の目的は、放射線誘導性NOによる細胞老化機構の解明を目的とした。本研究課題の成果として、DNA損傷応答による一酸化窒素産生が細胞内脂質・コレステロール代謝に影響を及ぼすことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線による心疾患は致死性が高く、放射線治療と被ばく管理において重要な課題となる。また、放射線による心血管疾患に、血管内皮細胞の細胞老化が深く関わると考えられるが、その分子機構は不明である。本研究の目的は、被ばくによる心血管疾患の病態解明を目指し、放射線誘導性NOによる細胞老化機構の解明である。本研究の成果は、放射線による心血管疾患の病態機構の解明のため重要な知見となる。

研究成果の概要（英文）：Radiation-induced cardiovascular disease is potentially lethal and represents an important concern in radiotherapy and radiation exposure managements. In addition, cellular senescence of vascular endothelial cells is thought to be closely related to radiation-induced cardiovascular diseases, but the molecular mechanism is unknown. The purpose of this study was to elucidate the mechanism of cellular senescence induced by radiation-induced NO. As a result of this project, it was found that nitric oxide production in response to DNA damage affects intracellular lipid and cholesterol metabolism.

研究分野：放射線生物学

キーワード：放射線被ばく 細胞老化 血管内皮細胞 一酸化窒素

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

広島・長崎における被ばく後コホート研究から、低線量被ばくによって脳卒中や心筋梗塞など心血管疾患リスクが 1 Gy あたり 14-18%上昇することが報告された (Shimizu Y et al., BMJ, 2010)。また、乳がんや肺がんなど胸部の放射線治療においては、心冠状動脈におけるアテローム性動脈硬化のリスクが上昇することが報告されている。この放射線による心血管疾患の要因として、血管内皮細胞の細胞老化が重要な役割をもつと考えられている。

細胞老化の分子機構としては、ゲノム不安定性および DNA 損傷応答の関与が示唆されており、老化に伴う慢性炎症によって心血管が障害される。よって、放射線による心血管疾患においても血管内皮細胞の老化が病態を誘導すると考えられる。申請者はこれまで、放射線照射により内皮細胞の内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) が活性化すること、eNOS より産生された一酸化窒素 (NO) が内皮細胞の老化を促進することを報告したしかし、放射線による血管内皮細胞の老化機構の全容は明らかではない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、血管内皮細胞の細胞老化機構の解明である。本目的を達成するため、ヒト初代培養血管内皮細胞およびマウス全身照射モデルを使用し、放射線による細胞老化における NO の機能を、分子生物学的・生化学的・組織学的に解析する。放射線誘導性 NO による細胞老化機構の解明により、被ばくによる心血管疾患の病態解明に寄与する。

## 3. 研究の方法

ヒト臍帯静脈内皮細胞 HUVEC を用いた。ウェスタンブロット、RT-qPCR にてタンパク質・遺伝子発現を解析し、各種阻害剤を用いて細胞内シグナル経路の関与を検討した。またマウス被ばくモデルをもちいて in vivo での解析を実施した。

## 4. 研究成果

SREBP-1 が減少した。この転写因子に生じた変化は NO 合成酵素阻害剤処理により抑制された。以上から、放射線誘導性 NO により制御を受ける転写因子を同定した。また、DNA 損傷応答が細胞内脂質・コレステロール代謝に影響を及ぼすことが明らかにした。血管内皮細胞に放射線を照射すると FASN、HMGCR をはじめとした脂肪酸/コレステロール合成酵素の遺伝子発現およびタンパク質発現が減少した。NO 合成酵素阻害剤処理はこれらの遺伝子発現の減少を抑制した。また、放射線照射後に FASN が産生するパルミチン酸を処理したところ、細胞老化が抑制された。なった。コレステロールは細胞膜の脂質ラフトを構成する脂質としての機能をもつ。脂質ラフトを構成する他の脂質への介入が MAPK 経路や STAT 経路に影響を及ぼすことを明らかにしたことから、放射線による DNA 損傷応答が細胞膜などの機能を制御することが示唆された。また、血管内皮細胞に放射線を照射すると DNA 損傷応答に関与する TP53 および炎症性サイトカイン産生に関与する NF $\kappa$ B p65 の発現が亢進した。

当初の研究計画では、マウス被ばくモデルにおける長期間の観察を予定していたが、コロナ禍もあり実施には至らなかった。しかし、血管内皮細胞の老化機構に関する新知見を得ることができたため、研究全体として自己評価は高い。また、今後は血管内皮以外の細胞における老化機構を検討する予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nagane Masaki, Yasui Hironobu, Kuppusamy Periannan, Yamashita Tadashi, Inanami Osamu	4. 巻 62
2. 論文標題 DNA damage response in vascular endothelial senescence: Implication for radiation-induced cardiovascular diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 564-573
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jrr/rrab032	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Suzuki Mira, Nagane Masaki, Kato Kazuhiro, Yamauchi Akinori, Shimizu Takuto, Yamashita Hiroko, Aihara Naoyuki, Kamiie Junichi, Kawashima Nagako, Naito Shokichi, Yamashita Tadashi	4. 巻 569
2. 論文標題 Endothelial ganglioside GM3 regulates angiogenesis in solid tumors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 10-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.06.063	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Komuro Mariko, Nagane Masaki, Endo Rikito, Nakamura Takashi, Miyamoto Takayoshi, Niwa Chiaki, Fukuyama Tomoki, Harashima Hideyoshi, Aihara Naoyuki, Kamiie Junichi, Suzuki Rimina, Yamashita Tadashi	4. 巻 599
2. 論文標題 Glucosylceramide in T cells regulates the pathology of inflammatory bowel disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 24-30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2022.02.004	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takuto Shimizu, Masaki Nagane, Mira Suzuki, Akinori Yamauchi, Kazuhiro Kato, Nagako Kawashima, Yuki Nemoto, Takuya Maruo, Yasushi Kawakami, Tadashi Yamashita	4. 巻 1864(12)
2. 論文標題 Tumor hypoxia regulates ganglioside GM3 synthase, which contributes to oxidative stress resistance in malignant melanoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et biophysica acta. General subjects	6. 最初と最後の頁 129723
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazuhiro Kato, Masaki Nagane, Naoyuki Aihara, Junichi Kamiie, Masakatsu Miyanabe, Shinobu Hiraki, Xiaolin Luo, Ikuo Nakanishi, Yoshimi Shoji, Ken-ichiro Matsumoto, Tadashi Yamashita	4. 巻 68
2. 論文標題 Lipid-soluble polyphenols from sweet potato exert antitumor activity and enhance chemosensitivity in breast cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 193-200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 永根大幹
2. 発表標題 血管内皮細胞の放射線応答
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 雨ヶ崎 建斗, 永根 大幹, 圓尾 拓也, 西山 優太, 山下 匡
2. 発表標題 放射線による脂肪酸合成酵素の減少は血管内皮細胞の早期細胞老化を誘導する
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木美羅, 永根大幹, 中西勇貴, 山下啓子, 相原尚之, 上家潤一, 川島永子, 内藤正吉, 山下匡
2. 発表標題 血管内皮細胞の糖脂質ガングリオシドGM3は腫瘍血管新生を制御する
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤由佳、加藤千博、佐藤沙菜、鈴木美羅、永根大幹、山下匡、石原孝也、石原直忠、佐藤拓己
2. 発表標題 3-ヒドロキシ酪酸を用いた糖質制限を伴わないケトン体治療は抗腫瘍効果を示す
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 加藤千博、永根大幹、相原尚之、上家潤一、宮鍋征克、開忍、羅霄霖、中西郁夫、莊司好美、松本謙一郎、山下匡
2. 発表標題 芋焼酎醪から抽出した脂溶性ポリフェノールは抗がん治療を増強する
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永根大幹
2. 発表標題 細胞競合によるがんの“Competitive Growth”
3. 学会等名 日本放射線影響学会第63回大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 美羅、永根 大幹、中西 勇貴、山下 匡
2. 発表標題 血管内皮細胞の糖脂質ガングリオシドGM3は腫瘍血管新生を制御する
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤 沙菜, 永根 大幹, 上家 潤一, 山下 匡
2. 発表標題 スフィンゴミエリン合成酵素の発現は血管新生に関与する
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山内 章寛, 永根 大幹, 金井 詠一, 西山 優太, 根本 有希, 圓尾 拓也, 柴田 悠貴, 清水 啄音, 山下 匡
2. 発表標題 スルファサラジンはイヌ悪性黒色腫の放射線感受性を増感させる
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水 琢首, 永根 幹, 村田 拓馬, 川島 永子, 圓尾 拓也, 吉岡 千恵, 山下 匡
2. 発表標題 腫瘍内低酸素はガングリオシド合成経路を介して腫瘍細胞の放射線感受性を制御する
3. 学会等名 第72回日本酸化ストレス学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------