

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：37114

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22790740

研究課題名（和文）脳血管障害形成過程における細胞内カルシウム動態の研究

研究課題名（英文）Association between cerebrovascular disease and store-operated calcium channel

研究代表者

久留島 秀朗（KURUSHIMA HIDEAKI）

福岡歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：70550870

研究成果の概要（和文）：

細胞内カルシウム濃度の上昇は細胞内シグナル伝達の柱の一つである。小胞体からのカルシウム放出により惹起される細胞外からのカルシウム流入は Store-Operated Calcium entry（以下、SOCE）と呼ばれるが生理的・病理的な意義は未解明の部分が多い。STIM1 蛋白質は小胞体内のカルシウム濃度を感知し、SOCE を開始させる。マウスモデルにおける免疫組織染色において、大動脈プラーク周囲に STIM1 蛋白質の染色性を認める細胞が浸潤していることが観察された。プラークと正常血管との境界領域において STIM1 蛋白質が強く発現していること、STIM1 蛋白質で染色される細胞は免疫組織染色での染色性や局在からマクロファージと考えられた。STIM1 蛋白質はマクロファージを介して動脈硬化の進展もしくは抑制し、単球から M1/M2 マクロファージに分化へ関与しているとの仮説を立てた。単球系継代細胞や単球初代培養細胞における STIM1 のノックダウンが、M1/M2 の構成比率に与える影響について現在検索中である。

研究成果の概要（英文）：

A rise in cytoplasmic  $Ca^{2+}$  concentration is a key messenger of cell signaling. STIM1 is a sensor of cytoplasmic  $Ca^{2+}$  concentration and regulates store-operated calcium entry (SOCE). A strong immunoreactivity of STIM1 was detected around aortic plaques in mice. We hypothesize that STIM1 determines whether monocyte differentiates into pro-inflammatory M1 macrophage or anti-inflammatory M2 macrophage. We are verifying it in established monocyte cell lines and human primary monocytes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：(1)脳血管障害 (2)動脈硬化 (3)カルシウムイオン

## 1. 研究開始当初の背景

細胞内カルシウム濃度の上昇は、動物細胞における細胞内シグナル伝達の鍵となってお

り、分泌、酵素の活性化、細胞の成長・増殖といった重要な細胞内活動の制御に深く関わっている。細胞内カルシウムを上昇させ

る主要なメカニズムは、(1)小胞体(以下、ER)を主とする細胞内カルシウムプールから細胞質への放出、(2)細胞膜上のカルシウムチャンネルの開口を介した細胞外からのカルシウム流入、がある。細胞内プールは限られているため、多くのカルシウム依存性の反応を惹起するためには後者の細胞外からのカルシウム流入が必要である。種々のカルシウム流入機構がある中で、研究代表者は Store-Operated Calcium entry (以下、SOCE)に着目した。SOCEとは、ERからのカルシウム放出後に細胞外からのカルシウム流入が惹起される現象である。2005年にER内のカルシウム濃度を感知する分子としてSTIM1が発見され(Nature 437, p902-5)、2006年にERのカルシウム放出後に細胞外からのカルシウム流入を引き起こすチャンネル(calcium-release-activated channel, CRAC)としてOraiが同定された。(Nature 443, p230-3) STIM1, Oraiを介した細胞内カルシウムの上昇はTリンパ球においてもっとも研究が進んでいる。CRACによる細胞内カルシウム濃度の上昇が脱リン酸化酵素カルシニューリンを活性化し、転写因子NFATが脱リン酸化され、核内移行することで標的蛋白の転写を引き起こす。この一連の反応が免疫反応において重要であることが判明している。(Nat Immunol.2, p316-24) STIM1ノックアウトマウスの骨髄を移植されたマウスでは、脳梗塞の体積が著明に減少し(J Exp Med. 205, p1583-91)、かつ血小板凝集能が特に病的状態において低下すると報告されている。(Blood 113, p2056-63) 研究代表者が2006年-2008年まで留学していたジョンズホプキンス大学のPaul Worley教授の研究室では、STIM1分子がOrai channelのみならず、TRPC channel familyとも相互作用し、STIM1/TRPCの組み合わせもSOCEの分子実態であることを明らかにした。(Nat Cell Biol. 8, p1003-10) (Nat Cell Biol. 9, p636-45)

## 2. 研究の目的

脳においてはほぼすべてのTRPC channelが発現していることから(Sci. STKE 2005, re3)、脳血管機能調節に深く関与している可能性が示唆される。実際、肺動脈では原発性肺高血圧症においてTRPC3の発現増加が細胞内カルシウム濃度の上昇を介して肺動脈平滑筋細胞の増殖を引き起こし、病態に関与していることが報告されている。(Proc Natl Acad Sci USA 101, p13861-6) また、TRPC6, TRPC3が血管平滑筋細胞の収縮といった機能調節に関与していることも報告されており(Mol Cell Biol 25, p6980-6989)、各種血管特異的な機能・性質・病理にTRPCの組成・発現量が関与している可能性が示唆される。SOCEの、血管機能に関する生理機能に

関する解析や動脈硬化進展への関与を病理学的に解析された研究はなく、発展が期待される有望な分野であり、脳血管機能・脳血管障害の研究を行い、発展させることを発想するに至った。

## 3. 研究の方法

(1) ApoE ノックアウトマウスの大動脈に形成されるプラークにおけるSTIM1の染色性を免疫組織染色にて確認する。

(2) 単球系継代細胞や単球初代培養細胞でSTIM1のノックダウンを行い、単球から pro-inflammatory M1 macrophage / anti-inflammatory M2 macrophage への分化に対する影響を確認する。

## 4. 研究成果

(1) プラークと正常血管との境界領域において単球/マクロファージと考えられる細胞にSTIM1の強い染色性を認めた。

(2) 現在のところ、細胞培養条件やノックダウンの条件を適正化中である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久留島 秀朗 (KURUSHIMA HIDEAKI)

福岡歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：70550870

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし