

平成 26 年 4 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790837

研究課題名(和文)血管内皮細胞機能障害とMicroparticle

研究課題名(英文)Vascular endothelial dysfunction and Microparticle

研究代表者

網谷 英介 (Amiya, Eisuke)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80529090

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：血管内皮細胞より放出される1 $\mu$ m程度のvesicle構造はMicroparticle(MP)と呼ばれ、動脈硬化との関連など各種病態との関連が報告されてきているものの、MPの機能や性質の詳細については依然として不明のままであった。今回の検討により、血管内皮細胞由来のvesicle形成においてlysosomeとの関連が示唆され、この側面より血管内皮由来vesicleと血管障害、動脈硬化形成について焦点をあてることにより、新たな側面をみることが期待できる。この知見をもとにして、血管内皮細胞の血管障害、動脈硬化形成への関わりについて臨床的な検討に広げていくことが可能となる。

研究成果の概要(英文)：There were several reports that demonstrated the associations between microparticle produced by vascular endothelial cells and the process of atherosclerosis. However, the concise mechanism and clinical meaning had not been elucidated yet. In this study, the association between microparticle produced by endothelial cells and lysosome organelle had been demonstrated and this finding may help to understand the contribution of endothelial microparticle to the process of atherosclerosis.

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：血管内皮細胞

1. 研究開始当初の背景

血管内皮細胞や血球細胞より放出される 1 μm 程度の vesicle 構造は Microparticle (MP) と呼ばれ、動脈硬化との関連など各種病態との関連が報告されてきているものの、MP の機能や性質の詳細については依然として不明のままである。昨今の研究より MP は細胞細胞間で miRNA などの核酸物質、脂質、蛋白などを運搬する役割が報告され、さまざまな局面で重要なはたらきをなしていることが報告されてきている。

2. 研究の目的

。今回、血管内皮細胞由来の MP に注目し、MP と内皮細胞機能との関連について in vitro 及び vivo の系にて検討し、内皮細胞からの病態の修飾の道を模索した。

3. 研究の方法

培養内皮細胞を用い、ストレス刺激を加えることで MP の産生を観察。さまざまな薬物負荷を加えることでこの MP がどのように変化するかを確認する。また循環器疾患患者の血液を採取、MP を分離し、これの生化学的検討を行う。

4. 研究成果

培養内皮細胞を用いた検討の結果、lysosome 関連のマーカーである LAMP-1 や LAMP-2 などの分子でラベルされた MP が確認され、lysosome を修飾するような薬剤によって MP の産生が修飾された。また lysosome の染色を行った後 live cell imaging を行うことで、lysosome 関連の vesicle が細胞外に放出されるのが確認された。また lysosome の機能を修飾する薬剤 (Chloroquine など) を使用することによって microparticle の産生が修飾された。これらより lysosome 関連の蛋白を糸口に MP の解析を加え、さらに実際のヒトの末梢血においてさまざまな疾患と関連して変動するかしらべることがより有用であることが示唆された。これらの考えをもとにヒト検体を用いた MP の分離を行い、その動態把握につとめ、新たな内皮機能のマーカー検索をすすめたところ、MP 内に含まれる mRNA の性質は動脈硬化のリスクによる影響を受けて変化することを確認した。この結果より、血液中の vesicle の血管障害への関与が示唆された

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 10 件)

1: Takata M, Amiya E, Watanabe M, Ozeki A, Watanabe A, Kawarasaki S, Nakao T, Hosoya Y, Uno K, Saito A, Murasawa T, Ono M, Nagai R, Komuro I. Brachial artery diameter has a predictive value in the

improvement of flow-mediated dilation after aortic valve replacement for aortic stenosis. Heart Vessels. 2014 Feb 5.

[Epub ahead of print]

2: Amiya E, Watanabe M, Takata M, Nakao T, Hosoya Y, Watanabe S, Nagai R, Komuro I. Diurnal body temperature rise is reduced in diabetes with autonomic neuropathy. Clin Auton Res. 2014 Apr;24(2):95-7.

3: Takahashi T, Asano Y, Amiya E, Hatano M, Tamaki Z, Takata M, Ozeki A, Watanabe A, Kawarasaki S, Taniguchi T, Ichimura Y, Toyama T, Watanabe M, Hirata Y, Nagai R, Komuro I, Sato S. Clinical correlation of brachial artery flow-mediated dilation in patients with systemic sclerosis. Mod Rheumatol. 2014 Jan;24(1):106-11.

4: Takata M, Amiya E, Watanabe M, Omori K, Imai Y, Fujita D, Nishimura H, Kato M, Morota T, Nawata K, Ozeki A, Watanabe A, Kawarasaki S, Hosoya Y, Nakao T, Maemura K, Nagai R, Hirata Y, Komuro I. Impairment of flow-mediated dilation correlates with aortic dilation in patients with Marfan syndrome. Heart Vessels. 2013 Jul 14. [Epub ahead of print]

5: Amiya E, Takata M, Watanabe M, Takahashi T, Asano Y, Hatano M, Ozeki A, Watanabe A, Kawarasaki S, Tamaki Z, Taniguchi T, Ichimura Y, Toyama T, Nagai R, Sato S, Komuro I. Presence of desaturated hemoglobin enhances the contribution of blood cells to flow-mediated dilation in subjects with systemic sclerosis. Int J Cardiol. 2013 Oct 3;168(3):3125-7.

6: Amiya E, Watanabe M, Takeda N, Saito T, Shiga T, Hosoya Y, Nakao T, Imai Y, Manabe I, Nagai R, Komuro I, Maemura K. Angiotensin II impairs endothelial nitric-oxide synthase bioavailability under free cholesterol-enriched conditions via intracellular free cholesterol-rich membrane microdomains. J Biol Chem. 2013 May 17;288(20):14497-509.

7: Watanabe S, Amiya E, Watanabe M, Takata M, Ozeki A, Watanabe A, Kawarasaki S, Nakao T, Hosoya Y, Omori K, Maemura K, Komuro I, Nagai R. Simultaneous heart rate variability monitoring enhances the predictive value of flow-mediated dilation in ischemic heart disease. Circ J. 2013;77(4):1018-25. Epub 2012 Dec 14.

8: Takahashi T, Asano Y, Amiya E, Hatano M, Tamaki Z, Ozeki A, Watanabe A, Kawarasaki S, Nakao T, Taniguchi T, Ichimura Y, Toyama T, Watanabe M, Hirata Y, Nagai R, Sato S. Improvement of endothelial function in parallel with the amelioration of dry cough and dyspnea due to interstitial pneumonia by

intravenous cyclophosphamide pulse therapy in patients with systemic sclerosis: a preliminary report of two cases. Mod Rheumatol. 2012 Aug;22(4):598-601.

9: 血管 VOL36 No.4 2013

総説 血管内皮細胞における脂質ラフトの役割

**網谷英介**、前村浩二

10: Anti-aging science : 脳心血管抗加齢研究会機関誌 5(2), 99-104, 2013-06

血管の老化と脳の老化.

**網谷英介**、小室一成

[学会発表](計 15件)

The 18th International Vascular Biology Meeting (京都)2014年4月14日

Endothelial Cellular Cholesterol Content Affects the Behavior of Endothelial Microparticles

**Eisuke Amiya**, Masafumi Watanabe, Issei Komuro

第78回日本循環器学会総会(東京)

2014年3月

Brachial Artery Diameter has a Predictive Value in improvement of Flow-mediated Dilation after

Aortic Valve Replacement for Aortic Stenosis

Munenori Takata, **Eisuke Amiya**, Masafumi Watanabe, Atsuko Ohzeki, Aya Watanabe, Shuichi Kawarasaki, Tomoko Nakao, Yumiko Hosoya, Aya Ebihara, Aya Saitoh, Takhide Murasawa, Minoru Ono, Ryoza Nagai, Issei Komuro

Pulse Pressure Change by the Position is Associated with the Presence of Ischemic Heart Disease

Munenori Takata, **Eisuke Amiya**, Masafumi Watanabe, Atsuko Ohzeki, Aya Watanabe, Shuichi Kawarasaki, Tomoko Nakao, Yumiko Hosoya, Issei Komuro

A novel susceptibility locus for Takayasu arteritis in the IL12B region, a potential marker of disease refractoriness to medical therapy

**Eisuke Amiya**, Takayoshi Matsumura, Yasuhiro Maejima, Chisato Takamura, Ryoza Nagai, Issei Komuro, Mitsuaki Isobe

第77回日本循環器学会総会(横浜)2013年3月

The Association between Body Temperature Variability and Endothelial Function in Ischemic Heart Disease

**Amiya E**, Watanabe M, Takata M, Watanabe S, Ozeki A, Watanabe A, Kawarasaki S, Nakao T, Hosoya Y, Omori K, Maemura K, Hirata Y, Nagai R, Komuro I.

Relationship between the Endothelial Function and Aortic Dilation in patients with Marfan Syndrome.

Munenori Takata, **Eisuke Amiya**, Masafumi Watanabe, Kazuko Omori, Yasushi Imai, Daishi Fujita, Hiroshi Nishimura, Masayoshi Kato, Tetsuro Morota, Kan Nawata, Atsuko Ozeki, Aya Watanabe, Shuichi Kawarasaki, Yumiko Hosoya, Tomoko Nakao, Koji Maemura, Ryoza Nagai, Yasunobu Hirata, Issei Komuro

第16回日本心血管内分泌学会学術総会

2012年11月23日

血管内皮のシステムと神経血液のシステムとの関連

**網谷英介**、渡辺昌文、高田宗典、大関敦子、渡邊綾、河原崎秀一、中尾倫子、細谷弓子、平田恭信、永井良三

虚血性心疾患合併高血圧患者におけるアリスキレンの血管内皮機能に及ぼす影響の検討

大関敦子、**網谷英介**、渡辺昌文、細谷弓子、高田宗典、渡邊綾、河原崎秀一、中尾倫子、山田奈美恵、田原由紀子、平田恭信、永井良三

第35回日本高血圧学会総会(名古屋)

2012年9月20日

体温の日内変動と血管内皮機能

**網谷英介**、渡辺昌文、高田宗典、大関敦子、渡邊綾、河原崎秀一、中尾倫子、細谷弓子、武田憲彦、渡辺彰吾、大森和子、平田恭信、永井良三

虚血性心疾患合併高血圧患者におけるアリスキレンの血管内皮機能に及ぼす影響の検討

大関敦子、**網谷英介**、渡辺昌文、細谷弓子、高田宗典、渡邊綾、河原崎秀一、中尾倫子、山田奈美恵、田原由紀子、平田恭信、永井良三

第22回東京高血圧研究会 2012年9月

血管内皮システムと他のシステムの関連

**網谷英介**

第76回日本循環器学会総会(福岡)

2012年3月16日

The Association between Endothelial Microparticles and Lysosome Organelle

**Amiya E**, Watanabe M, Maemura K, Nagai R

Platelets is association with the brachial artery diameter and the endothelial function in the Systemic Sclerosis patients

Munenori Takata, **Eisuke Amiya**, Masahumi Watanabe, Aya Morioka, Shuichi Kawarasaki, Tomoko Nakao, Yumiko Hosoya, Masaru Hatano, Shogo Watanabe, Kazuko Omori, Takehiro

Takahashi, Yoshihide Asano, Yohei Ichimura,  
Tetsuo Tohyama, Miki Sugita, Takashi  
Taniguchi, Zenshiro Tamaki, Shinichi Sato,  
Koji Maemura, Ryozo Nagai

成人病の病因・病態の解明に関する研究会  
大阪 2011年7月2-3日

Endothelial Cellular Cholesterol Content  
Regulates the Behavior of Endothelial  
Microparticles

**Eisuke Amiya**, Masafumi Watanabe, Koji  
Maemura, Ryozo Nagai

第75回日本循環器学会 横浜 2011年3月(8  
月)

Association between Flow-Mediated Dilatation  
and Autonomic Nerve System in Ischemic heart  
Disease

Shogo Watanabe, Masafumi Watanabe, **Eisuke  
Amiya**, Tomoko Nakao, Atsuko Ozeki, Aya  
Watanabe, Shuichi Kawarasaki, Koji Maemura,  
Ryozo Nagai

Endothelial Cellular Cholesterol Content  
Regulates the Behavior of Endothelial  
Microparticles

**Eisuke Amiya**, Koji Maemura, Tetsuya Saito,  
Yumiko Hosoya, Tomoko Nakao, Masafumi  
Watanabe, Ryozo Nagai

〔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  
<http://plaza.umin.ac.jp/~utok-card/study/fmd>

6. 研究組織  
(1) 研究代表者

網谷英介 (AMIYA EISUKE)  
東京大学医学部附属病院 助教  
研究者番号：80529090

(2) 研究分担者  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：