

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 27 日現在

機関番号：14101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670189

研究課題名(和文)成熟心筋を細胞周期に再入させることによる心筋再生の基礎的研究

研究課題名(英文) Myocardial regeneration research based on cell-cycle progression of the adult myocyte

研究代表者

橋詰 令太郎 (Hashizume, Ryotaro)

三重大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：50456662

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類成体の心筋細胞は細胞分裂能を喪失しているとされ、齧歯類では生後約7日で急速に心筋細胞の二核化が進み、同時に分裂能を喪失する。本研究では、心筋プロテオーム解析により心筋細胞分裂に関与すると推定される蛋白質12種類を同定した。単離心筋細胞を用いた培養実験では、心筋細胞が分裂するか、二核化して細胞周期から脱するかの細胞運命は、ECT2活性化以前に既に決定されていることを見出した。この細胞運命は更に、少なくともPLK1活性化に依存しており、細胞周期の思いの外初期に運命決定がなされていることが分明的となった。加えて、サルコメアの脱構造化は、分裂・二核化の双方で認められ、分裂に特異的ではなかった。

研究成果の概要(英文)：Cardiomyocytes dramatically proliferate in fetal life, however, exit the cell cycle soon in the perinatal period in mammals. In this process, DNA synthesis takes place in the absence of cytokinesis, resulting in bi-nucleation of the myocytes. Our proteome analysis identified more than 12 proteins relevant to cytokinesis of a rat ventricular myocyte. In the cell culture system with cells isolated from a rat neonate ventricle, we found that activation of ECT2 does not govern cardiomyocyte cell fate, in which myocytes undergo whether nuclear mitosis coupled with cytokinesis or acytokinetic mitosis. Furthermore, the study revealed that the cell fate of the neonatal cardiomyocyte is fairly dependent upon PLK1 expression, known as an early trigger for G2/M transition, which imply the cell fate has been already determined at an early period in the cell cycle. Finally, deconstruction of the cellular sarcomere structure was shown to be non-specific phenomenon to cytokinesis of the myocyte.

研究分野：再生医学

キーワード：心筋再生 細胞質分裂 二核化 プロテオミクス

1. 研究開始当初の背景

虚血性心疾患は、世界全体の死因第 1 位 (WHO, 2008)であり、その根本的治療を困難にしているのは、失われた心筋が再生しないことによる。虚血性心疾患に対して臨床的には、カテーテル治療や冠動脈バイパス術による虚血の解除、薬物療法や心室形成術によるリモデリングの是正、あるいは機械的左室補助が行われるが、いずれも残存心筋細胞は増加しないという前提に立脚している。虚血により失われた心筋細胞に対して、作業心筋としての成熟心筋を再生させる、換言すれば成熟心筋を細胞周期に再入させる事が出来れば、少なくとも虚血性心疾患に対する治療戦略は大きく変わりうると言える。

2. 研究の目的

自然状態で心筋再生能を有する動物種の再生機序は、残存成熟心筋細胞の細胞周期への再入である。たとえば、両生類や硬骨魚類 (zebrafish 等)では、生涯にわたり心筋再生能力を示すが、これらの心筋の再生は、幹細胞あるいは前駆細胞の遊走・分化ではなく、残存する成熟心筋が再び細胞周期に入ることによってなされる。すなわち、心室部分切除後、断端に位置する残存成熟心筋が、脱分化 (サルコメア構造の消失)ののち細胞周期に再入し細胞分裂を来し、ついで再分化することにより心筋再生が行われる。

成体では心筋再生能力を欠くほ乳類であっても、胎児期には活発に再生 (分裂)する上、出生後約 1 週は心筋再生が行われる。この場合もまた zebrafish と同様に、心筋再生は残存する成熟心筋が再び細胞周期に入ることによってなされる。成体の不全心では心筋細胞の DNA 合成がみられ、染色体の倍化や多核化の現象はみられるが、心筋の細胞分裂は起こらない。さらに、虚血関連のいわゆる冬眠心筋は、zebrafish の心筋再生でみられる脱分化は起こすが、細胞分裂はしない。以上の次第であり、本研究は、心筋細胞の細胞周期の制御機構、とりわけ細胞質分裂における制御機構の詳細な理解を試み、よって細胞質分裂の制御をアプローチとして、成熟心筋からの直接的な心筋再生を原理とした心筋再生療法への道標を示そうとするものである。

3. 研究の方法

(1) 心室筋プロテオミクス解析：ラット胎児 (E15.5) 生後 0 日 (P0)、P1、P3、P5、P7、P14、P28 の Wister ラットより、安楽死直後心臓を摘出し、実体顕微鏡下にて慎重に右室および左室を剥離した (三重大動物実験承認番号 26-1-変 1)。

【サンプル抽出】これら心筋を RIPA buffer (50mM Tris-HCl (pH7.6), 150 mM NaCl, 1% Nonidet P40, 0.5% sodium Deoxycholate, Protease inhibitor cocktail、ナカライテスク)・PhosSTOP (Roche) 混合液で溶解し、超音波処理後に遠心し、その上清を 2D Quant kit (GE

Healthcare)にて蛋白質定量した。100 µg のマウス心筋由来総蛋白質を 2D cleanup kit にて精製後、Destreak rehydration solution に溶解し、IPG ドライストリップに一晩膨潤した。

【二次元電気泳動】等電点電気泳動は Ettan IPGphor3 泳動システムを採用し、GE Healthcare の標準プロトコルを参照して行った。等電点泳動後、IPG ストリップは平衡化 buffer1 (2% SDS, 50 mM Tris-HCl (pH8.8), 6M urea, 30% glycerol, 1 mM DTT) で 15 分間還元反応を行い、平衡化 buffer2 (2% SDS, 50mM Tris-HCl (pH8.8), 6M urea, 30% glycerol, 1 mM iodoacetamide)で同じく 15 分アルキル化処理を行った。平衡化した IPG ゲルは SDS ゲル上に整地し、アガロースで封入後に泳動した。

【発現差異スポットの処理】発現差異のあるタンパク質を同定するため、200 µg のマウス心筋由来総蛋白質を泳動し、泳動後のゲルを固定液 (50%メタノール、7%酢酸)で固定後、Sypro ruby 染色 (Life technologies) を用いて標準的なプロトコル通りに染色した。脱色 (10%メタノール、7%酢酸)後、Typhoon 9500 (GE Healthcare)によりスキャンし、変動のあったスポットを約 50 目視にて選択し、ImageQuant TL ver.7.0 (GE Healthcare) により発現量変化を定量化した。定量的に発現量変化を示したスポットを 20 に絞り込み、ゲルから切り出した。ゲル片は 50 mM 重炭酸アンモニウム、50%アセトニトリルで洗浄後、アセトニトリルを加えて完全乾燥させ、40 ng/mL トリプシン (Wako) を添加し、37 °C で消化した。抽出は 0.1%トリフルオロ酢酸・20%アセトニトリル溶液 0.1%トリフルオロ酢酸・50%アセトニトリル溶液 0.1%トリフルオロ酢酸・80%アセトニトリル溶液の順で Sonication 処理を行いながら行った。抽出されたペプチド混合液は完全乾燥後、10 µL の 0.1%トリフルオロ酢酸・5%アセトニトリル溶液に溶解し、ZipTip C18 pipette tip (Merck-Millipore)を用いて脱塩・濃縮した。

【4800 Plus MALDI TOF/TOF Analyzer と Protein Pilot による蛋白質の測定・同定】質量分析は、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (Matrix-assisted laser desorption ionization, MALDI)を用い、飛行時間質量分析 (time of flight mass spectrometry, TOF MS) により行った。質量分析計は、4800 plus MALDI TOF/TOF analyzer (AB SCIEX)を用いた。断片ペプチドの測定には 10 mg/mL のシナピン酸 (50% アセトニトリル・0.1% トリフルオロ酢酸混合液にて希釈) をマトリックスとして用いた。ペプチド溶液とマトリックス溶液を等量混和しプレートに滴下し乾燥後、測定した。Acquisition method、ならびに processing method は reflector positive、Interpretation method については TOP 10 を採用した。

タンパク質は Protein Pilot software (AB SCIEX)を用いて同定し、標準設定 (sample type,

identification; cysteine alkylation, none; species, *Mus musculus*; ID focus, biological modification; enzyme, trypsin; search effort, thorough ID)を使い、NCBI データベースで検索した。ProteinPilotを用いて False discovery rate (FDR) をすべての検索で行った。> 99% confidence の条件を備えたペプチドの解析を進め、MS/MS 断片化スペクトルは手動で調べた。

(2) 心筋細胞単離：生後 2~3 日の Wister ラットより、安楽死直後両心室を摘出し、組織細断の後、酵素処理法(Neonatal Cardiomyocyte Isolation System, Worthington)にて心筋細胞を単離した。単离心筋細胞は、血清不含培地(DMEM/F12(Gibco) + 3 mM Na-pyruvate (Sigma) + 0.2% BSA + 0.1 mM ascorbic acid (Sigma)+ 0.5% insulin-Transferrin-Selenium (Gibco) + 1% Streptomycin, Amphotericin B, Penicillin (Gibco) +2 mM-glutamine (Gibco))にて 1 日培養後、細胞学的実験に供した。

(3) 細胞培養と細胞分裂誘導：単離したラット心筋細胞 (P2-P3) を、トリプシン/EDTA 処理にて回収し、4-well culture slide (BioCoat fibronectin, Becton, Dickinson)に 20x104/well となるよう播種し、混入を避け得ない心臓線維芽細胞の増殖を極力抑制するために上記血清不含培地(1 mL medium/well)を使用し、3 日間 (72 時間) 維持培養した。培地中に、fibroblast growth factor-1 (FGF-1, 50 ng/mL, R&D)、p38α および p38β MAP kinase 阻害剤 SB203580 (5 μM, Cell Signaling Technology)、neuregulin-1 beta 1 (NRG-1- 1β, 50 ng/mL, R&D)、interleukin 1β (IL1β, 100 ng/mL, R&D) を添加したものを心筋細胞完全培養培地として使用した。

(4) 分裂細胞の標識：分裂細胞の検出は、心筋細胞完全培養培地に、チミジンのアナログである 5-エチニル-2'-デオキシウリジン (Edu) を終濃度 10 μM 添加し、新生 DNA を固定後 Alexa Fluor® 647 にて可視化し検出した (Click-iT® Edu Imaging Kit, Thermo Fisher Scientific)。

(5) 蛍光免疫学的染色：培養後、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で細胞を洗浄し、4% paraformaldehyde in PBS で 10 分間固定した。0.2% Triton X-100, 10% ヤギ血清を含む PBS でブロッキングした後、標的抗原に対する抗体溶液 (Troponin T (1/100, Cardiac Isoform, monoclonal [13-11], Thermo scientific), Plk (1/200, monoclonal, [F-8], Santa Cruz), Ect2 (1/200, monoclonal [GTU-88], Santa Cruz), Aurora B (1/50, polyclonal, Sigma), Caveolin 3 (1/200, monoclonal [26/Caveolin 3], BD), lamin A/C (1/200, polyclonal, Cell Signaling Technology), lamin B (1/200, polyclonal, Santa Cruz)) を 2 時間温室にて作用させた。PBS にて洗浄の後、Alexa Fluor 488 標識 anti-mouse IgG (1/1000, Cell Signaling Technology)、および anti-rabbit IgG (1/1000, Cell Signaling Technology)、Alexa Fluor 555 標識 anti-mouse IgM (1/1000, Life technologies)、および

anti-goat IgG (1/1000, Life technologies) を二次抗体として作用させた。核染色 (Hoechst33342, 1/100000, Roche) の後、共焦点レーザー顕微鏡 (LSM710, Zeiss) にて撮像を行った。

4. 研究成果

(1) ラット心室筋からの蛋白質抽出と二次元展開

Wister ラット胎児 (E15.5) 生後 0 日 (P0)、P1、P3、P5、P7、P14、P28 の心室蛋白質を二次元展開し、時間窓内で変化を示したスポットを 20 抽出した (図 1)。

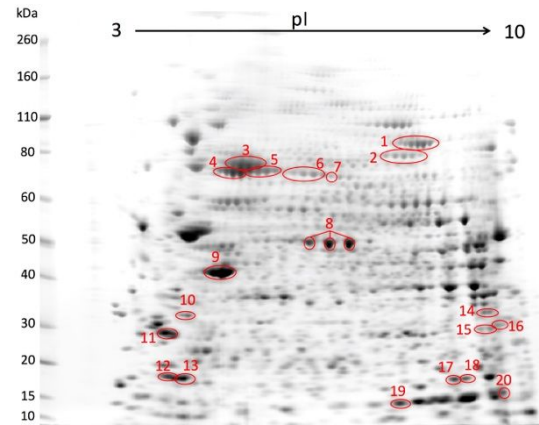


図 1. E15.5 ラット胎児心室抽出蛋白質の二次元展開 赤枠および番号は、E15.5~P28 時相間で発現量変化を認め本実験で解析したものの。

(2) 二次元展開スポットの蛋白質同定

MALDI TOF/TOF にて抽出スポットの蛋白質を 20 同定した (表 1)。図 2 に同定された 78kDa glucose-regulated protein (表 1 中 #5) 由来ペプチドの MSMS 解析結果を示す。

表 1. 変動を示す抽出スポットの蛋白質同定

Spot #	% Cov	総アミノ酸数	名前	等電点	分子量
1	72.2	780	Aconitate hydratase, mitochondrial	8.08	85463.51
2	29.4	697	Serotransferrin	6.94	76723.81
3	77.3	679	Stress-70 protein, mitochondrial	5.81	73461.25
4	70.1	646	Heat shock cognate 71 kDa protein	5.37	70871.07
5	46.9	655	78 kDa glucose-regulated protein	5.07	72422.06
6	32.9	639	Sec1 family domain-containing protein 1	5.98	72322.88
7	37	608	Nuclear protein localization protein 4 homolog	6.01	68017.18
8	26.6	482	Lipoamide acyltransferase component of branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase complex, mitochondrial	8.78	53246.53
9	78.3	377	Actin, alpha cardiac muscle 1	5.23	42018.97
10	38.2	319	Annexin A5	4.82	35752.44
11	75.9	245	14-3-3 protein zeta/delta	4.73	27771.14
11	75.9	245	14-3-3 protein theta	4.69	27778.28
11	71.1	246	14-3-3 protein eta	4.81	28211.74
11	70	247	14-3-3 protein gamma	4.8	28302.59
12	93.7	175	Myosin regulatory light chain 2, atrial isoform	4.72	19449.96
13	97	166	Myosin regulatory light chain 2, ventricular/cardiac muscle isoform	4.83	18864.35
14	45.6	298	ATP synthase subunit gamma, mitochondrial	9.06	32885.9
15	49.6	248	Proteasome subunit alpha type-7	8.59	27854.85
16	92.4	224	Peptidyl-prolyl isomerase FKBP3	9.29	25147.79
17	68.9	164	Peptidyl-prolyl isomerase A	7.73	17971.34
18	81.1	164	Peptidyl-prolyl isomerase A	7.73	17971.34
19	68.2	132	40S ribosomal protein S12	6.82	14524.96
20	91.4	140	Profilin-1	8.46	14957.22

E15.5 から P28 にかけての時間的発現量変動パターンからは、これら蛋白質は、発現量が成長に伴い増加するもの (Group A、表 1 赤) 心筋の二核化が起こり細胞分裂能を喪失する生後 P1-P7 での時間窓で発現量上昇をみせ、その後成長に従い低下するもの (Group B、表 1 青) 成長に伴い低下するもの (Group C、表 1 緑) に分類し得た (図 3)。

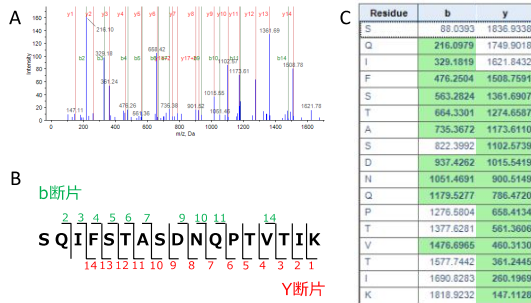


図 2. 78 kDa glucose-regulated protein 由来ペプチドの MSMS 解析の結果

A. 当該蛋白質ペプチド (SQIFSTASDNQPTVTIK) の MSMS スペクトル (青)。y 断片由来ペプチドを赤、b 断片を緑で示す。m/z:質量電荷比。B. 同定ペプチドの MSMS フラグメントイオンの表示例。C. ProteinPilotTM ソフトウェアによる当該ペプチドの MS/MS フラグメントイオン解析。緑色の反転部が確認されたスペクトルを示す。

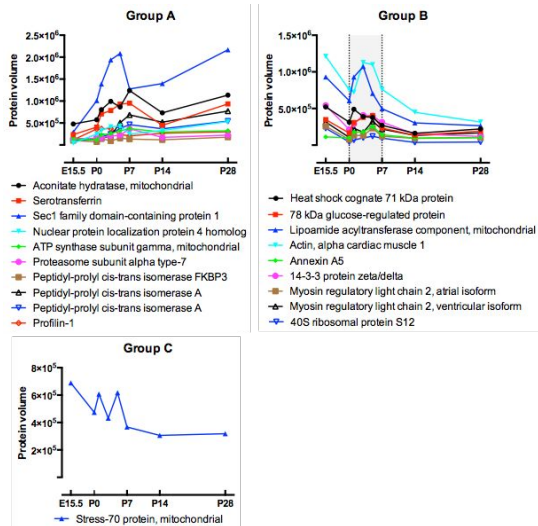


図 3. 心室発現蛋白質の発現量変動 Group B では胎児期に発現量が多く、P1-P7 で発現量上昇を示した後、成長に伴い低下する。P1-P7 は、生後にみられる生涯最後の心筋細胞増生期とされる。

Group B に分類される 12 種類の発現蛋白質が心筋細胞の DNA 複製、細胞質分裂の促進、および二核化の抑制に関連していると思われる。

(3) 新生児ラット心筋培養系の確立
ラット新生児単離心筋の 72 時間培養系で、

約 7 割の心筋細胞が核分裂・細胞質分裂を完遂する in vitro 実験系を確立した (図 4)。播種細胞密度に依存し、 $5.0 \sim 7.5 \times 10^4$ cells/cm² が適正細胞密度であり、また p38 MAPK 阻害剤は必須であり、かつ血清は心筋分裂率を高めるも混入線維芽細胞の分裂率を高度に高めるため添加は相応しくない等が明らかとなった (図 5)。

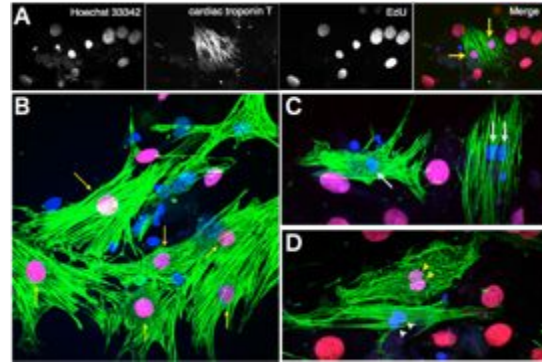


図 4. ラット心筋培養実験系 A-B. 核酸合成が行われ細胞質分裂を完遂した一核心筋細胞。C. 培養中核酸合成が行われなかった一核および二核心筋細胞。D. 培養中に細胞質分裂を行わず二核化した心筋細胞。

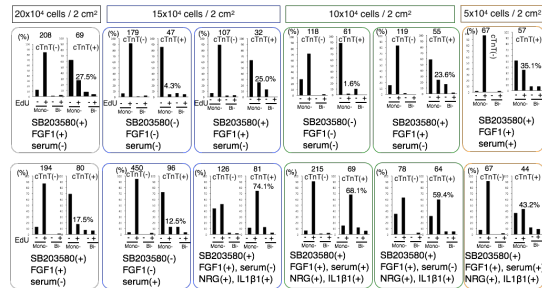


図 5. 培養細胞密度、添加物ごとの、72 時間培養後心筋細胞の細胞特性 心筋細胞分裂率は細胞播種密度および p38 MAPK 阻害剤の有無に依存する。

(4) ECT2 発現は心筋細胞分裂/二核化の運命決定因子ではない

細胞分裂(G2~M 期)に発現するとされる、Rho-specific exchange factor である ECT2 発現と心筋細胞分裂もしくは二核化との関係を検討した。免疫染色解析の結果、一核を保持したまま細胞質分裂を完遂する心筋細胞のみならず、二核化する心筋細胞にも発現しており、一核を保持したままの細胞質分裂現象に特異的ではないことが分かった (図 6)。

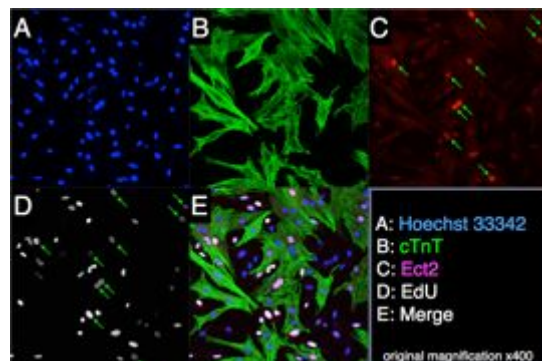


図 6. 抗 ECT2 抗体を使用した多重免疫染色
分裂細胞、二核化細胞の双方に ECT2 発現を
みる。

(5) PLK1 発現は心筋細胞分裂/二核化の運命
決定に与る

Serine/threonine-protein kinase PLK1 (別名 polo-like kinase 1) は、細胞分裂時に G2/M transition のトリガーとして作用する。抗 PLK1 抗体を用いた免疫染色解析では、一核分裂心筋細胞でのみ発現が認められ、二核化心筋細胞では発現は指摘出来なかった(図 7)。心筋の細胞質分裂には、少なくとも PLK1 の活性化が必須で、この活性化の不在は、細胞質分裂を招来せず二核の心筋細胞となり細胞周期を脱することが示唆された。すわち二核化し細胞質分裂の行われない心筋となるか、細胞質分裂を完遂して2つの一核心筋細胞となるかは、初期の時点で運命決定がなされていることが示唆された。

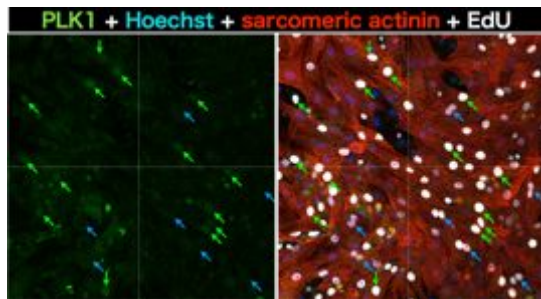


図 7. 抗 PLK1 抗体を使用した多重免疫染色
二核化する心筋細胞では PLK1 発現は認めら
れない。

(6)サルコメアの脱構造化は細胞運命に非特
異的である

細胞質内サルコメアの存在は細胞質分裂を阻害し(steric hindrance)、二核化を誘導するという古くからある仮説を検証した。結果、分裂する一核心筋細胞においても、二核化においても同程度にサルコメア特有の構造は解除され、細胞質内に地図上に配置された(図 8)。かかる結果は、サルコメアの脱分化は細胞運命に非特異的であり、本現象と細胞運命は本質的には無関係であるとする説を支持する。

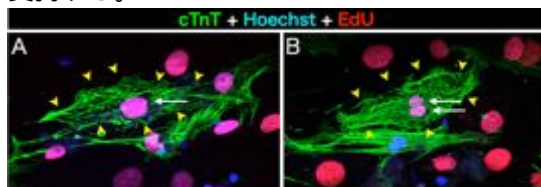


図 8. サルコメアの脱構造化 細胞分裂(A)に
おいても、二核化(B)においても、同程度の脱
構造化が認められる(黄色矢頭)。

細胞分裂、二核化のいずれにおいてもサルコ
メアの脱構造化が必須であると同時に、分子
レベルでは構成分子は細胞質に残存してい
ることが明らかとなった。

(7) midbody 形成と abscission 完遂と細胞運命
細胞質分裂を完遂する心筋細胞では
Aurora B の分裂溝への集積、midbody への集
積が abscission 直前まで認められた一方、二
核化心筋細胞では、明瞭な midbody 形成が指
摘出来ず、加えて分裂溝への Aurora B 集積を
認めなかった(図 9)。

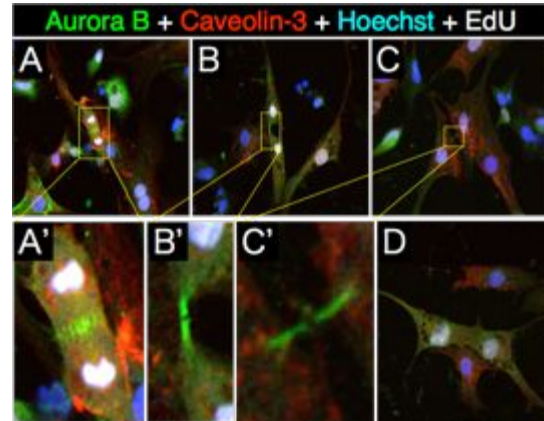


図 9. Aurora B の局在化と細胞質分裂 細胞質
分裂完遂心筋細胞では Aurora B の分裂溝お
よび midbody 局在を示したが、二核化過程
では局在化を認めなかった。A-C:細胞質分裂
完遂心筋細胞、D:二核化心筋細胞。

(8) 核膜中間径フィラメント (lamin A/C, B)
の発現は、細胞質分裂を完遂する細胞と二核
化する細胞との間で、特段の差異は指摘出来
なかった(図 10)。

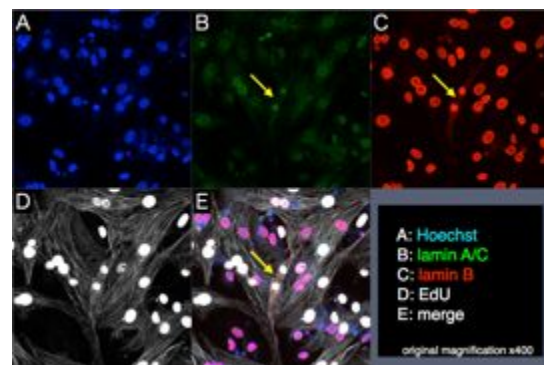


図 10. 核膜中間径フィラメントと細胞運命
細胞運命と lamin A/C および lamin B の発現被
殻では、細胞質分裂と二核化で差異を指摘出
来なかった。矢印：細胞質分裂細胞。

研究開始当初我々は、ECT2 が RhoA を活
性化した以降に、細胞質分裂を完遂するか、
二核化するかの細胞運命の決定作用点があ
ると推測していたが、実際は PLK1 活性化以
前という思いの外初期の段階に決定作用点
があることが判明し、我々の当初の作業仮説
は棄却された。細胞周期上のこの時点は、今
回の研究で解析射程とした時相よりもはる
かに早い段階であり、PLK1 活性化以前の分
子細胞生物学的挙動の解析が必要と判断さ
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. Ma F, Takanari H, Masuda K, Morishima M, Ono K. Erratum to: Short- and long-term inhibition of cardiac inward-rectifier potassium channel current by an antiarrhythmic drug bepridil. *Heart Vessels*. 査読有 2016. [Epub ahead of print]
2. Takanari H, Miwa K, Fu X, Nakai J, Ito A, Ino K, et al. A New In Vitro Co-Culture Model Using Magnetic Force-Based Nanotechnology. *J Cell Physiol*. 査読有 2016. [Epub ahead of print]
3. Ma F, Takanari H, Masuda K, Morishima M, Ono K. Short- and long-term inhibition of cardiac inward-rectifier potassium channel current by an antiarrhythmic drug bepridil. *Heart Vessels*. 査読有 2015. [Epub ahead of print]
4. Okuda T, Takanari H, Shiotani S. A systematic review and pooled analysis of CPR-associated cardiovascular and thoracic injuries. *Resuscitation*. 査読有 2015;97:e3.
5. Okuda T, Takanari H, Shiotani S, Hayakawa H, Ohno Y, Fowler DR. Pericardial tear as a consequence of cardiopulmonary resuscitation (CPR) involving chest compression: a report of two postmortem cases of acute type A aortic dissection with hemopericardium. *Leg Med (Tokyo)*. 査読有 2015;17(3):201-4.
6. Fujimoto M, Shiba M, Kawakita F, Liu L, Shimojo N, Imanaka-Yoshida K, et al. Deficiency of tenascin-C and attenuation of blood-brain barrier disruption following experimental subarachnoid hemorrhage in mice. *J Neurosurg*. 査読有 2015:1-10.
7. Fujimoto M, Shiba M, Kawakita F, Shimojo N, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, et al. Vasoconstrictive effect of tenascin-C on cerebral arteries in rats. *Acta Neurochir Suppl*. 査読有 2015;120:99-103.
8. Shimojo N, Hashizume R, Kanayama K, Hara M, Suzuki Y, Nishioka T, et al. Tenascin-C may accelerate cardiac fibrosis by activating macrophages via the integrin $\alpha V\beta 3$ /nuclear factor- κB / interleukin-6 axis. *Hypertension*. 査読有 2015;66(4):757-66.
9. Yamawaki-Ogata A, Hashizume R, Fu XM, Usui A, Narita Y. Mesenchymal stem cells for treatment of aortic aneurysms. *World J Stem Cells*. 査読有 2014;6(3):278-87.
10. Yamawaki-Ogata A, Fu X, Hashizume R, Fujimoto KL, Araki Y, Oshima H, et al. Therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in formed aortic aneurysms of a mouse model. *Eur J Cardiothorac Surg*. 査読有 2014;45(5):e156-65.

[学会発表](計6件)

1. 高成広起ら. Structure-based analysis of the function of Kir2.1 channel using a novel IK1

blocker PA-6: Interplay between PA-6 and intracellular spermine. 第93回日本生理学会大会. 2016年3月22日. 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市).

2. Shimojo N, Hashizume R, Kanayama K, Suzuki Y, Hara M, Nishioka T, Yoshida T, Imanaka-Yoshida K. Tenascin-C accelerates cardiac fibrosis by activating macrophages via integrin $\alpha V\beta 3$ /NF κ B/IL-6 axis. 22nd International Symposium on Molecular Cell Biology of MACROPHAGES 2014, 2-3 Jun. 2014, 神戸商工会議所(兵庫県・神戸市).
3. Shimojo N, Hashizume R, Kanayama K, Suzuki Y, Hara M, Nishioka T, Yoshida T, Imanaka-Yoshida K. Tenascin-C may accelerate cardiac fibrosis by activating macrophages via integrin $\alpha V\beta 3$ /NF κ B/IL-6 axis. The European and the International Societies of Hypertension 2014, 13-16 Jun. 2014, Greece, Athens
4. Shimojo N, Hashizume R, Kanayama K, Suzuki Y, Hara M, Nishioka T, Yoshida T, Imanaka-Yoshida K. Knockout of tenascin-c reduces cardiovascular fibrosis by activation of macrophages via integrin $\alpha v\beta 3$ /NF- κ B in mouse hypertensive heart. The 16th International SHR Symposium, 18 Jun. 2014, Roma, Italy
5. Shimojo N, Hashizume R, Kanayama K, Suzuki Y, Hara M, Nishioka T, Yoshida T, Imanaka-Yoshida K. A Functional Role of Tenascin-C in Mouse hypertensive heart. American Heart Association Scientific Sessions 2014, 15-19 Nov. 2014, Chicago, IL, 米国.
6. 橋詰令太郎, 高成啓介, Nelson Devin, Zuwei Ma, William R. Wagner. 多血小板血漿(PRP)含有ハイドロゲルの心筋梗塞巣局所注入は梗塞サイズを縮小し血管新生を促進する. 第14回日本再生医療学会総会. 2015年3月20日. パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市).

6. 研究組織

(1)研究代表者

橋詰 令太郎 (Hashizume, Ryotaro)
三重大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 50456662

(2)研究分担者

下條 尚志 (Shimojo, Naoshi)
藤田保健衛生大学・医学部・客員講師
研究者番号: 70410751

高成 広起 (Takanari, Hiroki)
大分大学・医学部・助教
研究者番号: 70723253

黒田垂歩 (Kuroda, Taruho)
三重大学・医学系研究科・助教
研究者番号: 00391946

(3)連携研究者

原 万里 (Hara, Mari)
三重大学・医学部・教務職員
研究者番号: 30176383