

平成 21 年 4 月 28 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19590852

研究課題名（和文） 内皮細胞カベオラの空間的制御による局所 Ca²⁺ 流入調節機構とその生理的意義の解明研究課題名（英文） Mechanisms and physiology of Ca²⁺ influx by spatial regulation of caveolae in endothelial cells

研究代表者

一色 政志 (ISSHIKI MASASHI)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号 70302734

研究成果の概要：培養血管内皮細胞において、急性期のアルドステロン前処置は ATP による eNOS リン酸化亢進を介して NO 産生を増強する。また、MR ブロッカーエプレレノン[®]は SREBP1 の活性化による caveolin-1 発現の低下、caveolin1 非結合型フリー-eNOS 増加、eNOS リン酸化増強を介して NO 産生をきたす。この現象はおそらく MR 非依存的であり、メタボリックシンドロームモデル動物である SHRcp でも同様の現象が観察された。エプレレノンはこの局所膜マイクロドメインにおいてこれまで知られなかった新しい機序で内皮機能を改善する効果を発揮する可能性が見いだされた。

交付額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|------|-----------|-----------|-----------|
| 19年度 | 1,800,000 | 540,000 | 2,340,000 |
| 20年度 | 1,700,000 | 510,000 | 2,210,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：シグナル伝達・高血圧・イメージング・内皮機能

1. 研究開始当初の背景

カルシウムイオンは多岐にわたる生命現象を制御するセカンドメッセンジャーであり、内皮細胞における NO 産生を介して内皮機能の制御に重要な役割を果たしている。とくに NO 産生酵素である eNOS は膜マイクロドメインであるカベオラに集積し、カベオラ構造蛋白であるカベオリンによって抑制的に調節されている。

2. 研究の目的

アルドステロンによるカベオリンと eNOS との結合または eNOS リン酸化を介した内

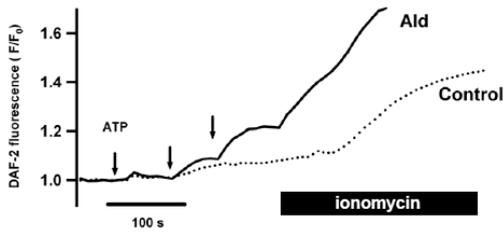
皮機能調節機構と薬剤との関連を明らかにする。また、近年増加しているメタボリック症候群は心血管病の高リスク群であるが、その初期の病態形成において内皮機能障害が重要な役割を果たすことが知られる。一方、ミネラルコルチコイド受容体（MR）阻害による様々な心血管障害の改善効果が明らかになりつつある。本研究はメタボリック症候群モデルラットの血管内皮機能に及ぼす MR 阻害薬エプレレノン（Epl）の効果とその機序の解明を目的とした。

3. 研究の方法

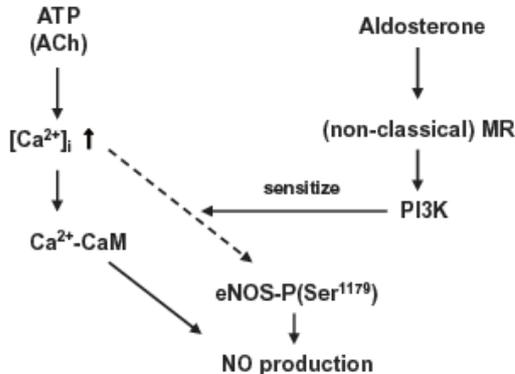
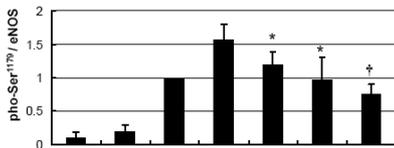
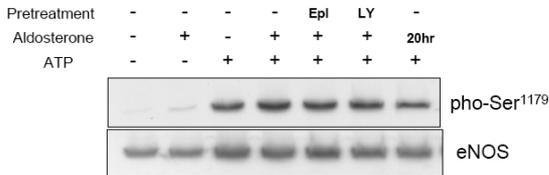
DAF2 による NO 産生、Ca²⁺ 蛍光指示薬による細胞内 Ca²⁺ シグナル、caveolin-1, LOX-1 など細胞内膜蛋白の局在は共焦点レーザー顕微鏡で観察。eNOS 発現やリン酸化は western blotting で、eNOS と caveolin 結合は免疫沈降で行い、動物の血管機能は大動脈によるアセチルコリンに対する拡張反応で評価した。

4. 研究成果

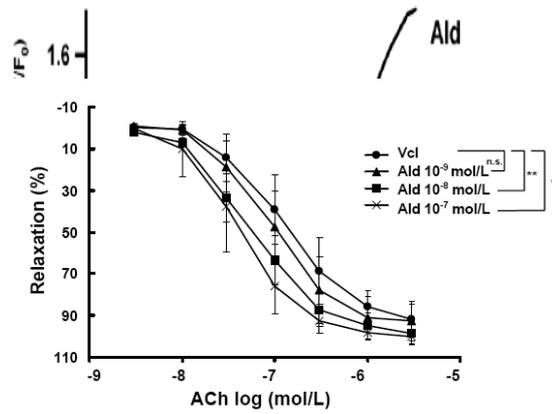
(1-1) 急性期のアルドステロン前処置は ATP による eNOS リン酸化亢進を介して NO 産生を増強する。



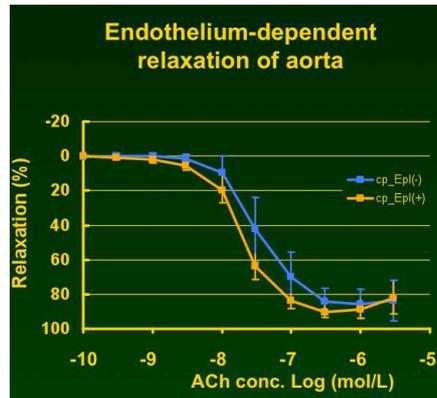
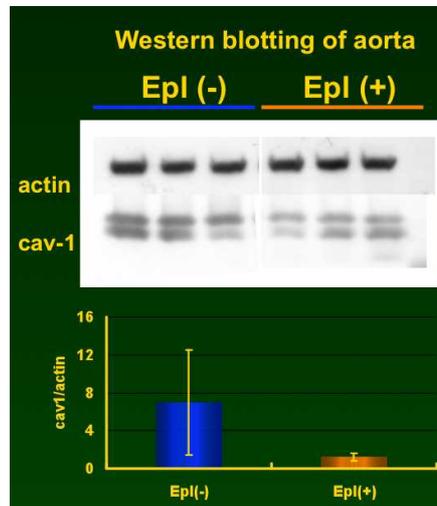
(1-2) その機序として PI3 キナーゼ依存性の eNOS リン酸化の亢進の機序が示唆された。



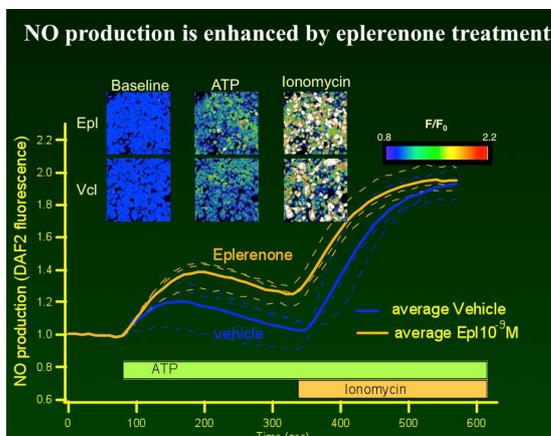
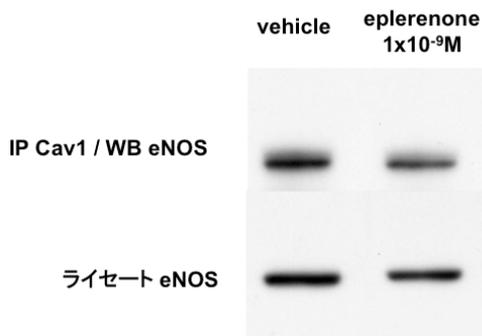
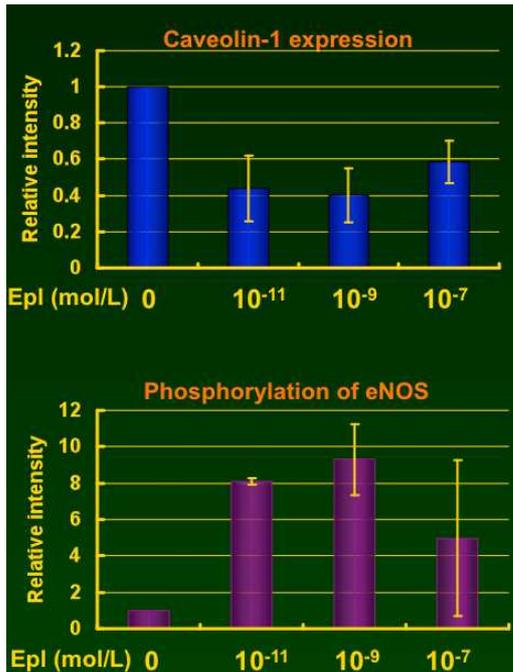
(1-3) エプレレノンの内皮機能改善効果は SD ラットにおける大動脈リングにおいても確認された。



(2-1) メタボリックシンドロームも出る動物においてエプレレノン投与 (30mg/kg/day) により大動脈血管の caveolin1 発現量の低下と、血圧非依存的な内皮機能改善効果が認められた



(3-2) また、MR ブロッカーエプレレノンは caveolin-1 発現の低下とフリー-eNOS 増大、eNOS リン酸化増強を介して NO 産生を MR 非依的に増大メタボリックシンドロームモデル動物でも同様の現象が観察された。Caveolin-1 現象は、SREBP1 活性化が関与していることが確認された。



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 1 件)

Aldosterone enhances ligand-stimulated nitric oxide production in endothelial cells. Mutoh A, Isshiki M, Fujita T. Hypertens Res 31;1811-20, 2008 [査読あり]

〔学会発表〕(計 7 件)

1. Eplerenone down-regulates caveolin-1 and improves endothelial function by mechanisms independent of MR antagonism. Mutoh A, Isshiki M, Nishimoto M, Fujita T. The 2nd International Aldosterone Forum in Japan (Award winners' oral presentation) 2009 年 5 月 17 日、東京

2. 低用量エプレレノンによる MR 非依存的に内皮機能を改善する 武藤明子、一色政志、西本光宏、藤田敏郎 日本内分泌学会 2009 年 4 月 24 日、前橋

3. Low-dose eplerenone down-regulates caveolin-1 and improves endothelial function by mechanisms independent of MR antagonism. Mutoh A, Isshiki M, and Fujita T. AHA Scientific Sessions 2008 (oral presentation) 2008 年 11 月 10 日、ニューオーリンズ、米国

4. エプレレノンによる肥満高血圧ラットの血管内皮機能改善とその機序 武藤明子、一色政志、西本光宏、藤田敏郎 日本内分泌学会 2008 年 5 月 17 日、青森

5. エプレレノンによるメタボリックシンドロームラットの血管内皮機能改善とその機序 武藤明子、一色政志、西本光宏、藤田敏郎 日本高血圧学会 2008 年 10 月 10 日、札幌

6. LOX-1 upregulation shifts endocytosis of cholera toxin from caveolae-mediated to noncaveolae-mediated pathway in endothelial cells. Mutoh A, Isshiki M, and Fujita T. AHA Scientific Sessions 2007 (poster presentation) 2007 年 11 月 8 日、オランダ、米国

7. アルドステロンはリガンド刺激による eNOS リン酸化の増強を介して血管内皮 NO 産生を亢進する 武藤明子、高良洋平、一色政志、藤田敏郎 日本高血圧学会 2007 年 10 月 26 日、那覇

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1)研究代表者

一色 政志 (ISSHIKI MASASHI)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号 70302734

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

藤田 敏郎(TOSHIRO FUJITA)
東京大学・医学部附属病院・教授
研究者番号 10114125