

機関番号：12601

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790704

研究課題名 (和文) 血管内皮細胞と VESICLE 構造

研究課題名 (英文) Vascular Endothelial Cells and Vesicle Structure

研究代表者 網谷 英介 (AMIYA EISUKE)

東京大学・医学部付属病院・助教

研究者番号：80529090

研究成果の概要 (和文) : 今回の研究は血管内皮細胞に見られる VESICLE 構造に着目し、その存在と内皮細胞機能の変化との関係について解析を行うものである。今回の研究において、VESICLE 構造は活性酸素が産生される場、あるいは Free cholesterol rich な膜 domain である Lipid Raft と密接な関係にあることを通じて、血管内皮細胞内のシグナル伝達の重要な拠点となり、内皮細胞機能を大きく修飾することが確認された。またこの VESICLE 構造は、細胞外へ産生される Microparticle という VESICLE 構造とも関連があり、それらを通じて内皮細胞が動脈硬化の発生に寄与することが示唆された。

研究成果の概要 (英文) :

The objective of this study was to investigate about the relation between endothelial vesicle structures and endothelial function. This study demonstrated that vesicle structures detected in endothelial cytoplasm were the platform which modify the endothelial function through redox signaling or in lipid raft dependent manner. In addition, microparticle, extracellular vesicle structure which was derived from endothelial cell, was suggested to be also related with intracellular vesicle structure and have characteristics of proatherogenic properties.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：循環器・高血圧、脂質、シグナル伝達

## 1. 研究開始当初の背景

今までの基礎的及び臨床的研究の結果より、血管内皮細胞が動脈硬化などの病態が生じる起点として重要であることが示唆されているが、まだ不明確なことが多い。実際、動脈硬化のリスクは内皮機能障害をひきおこし、また動脈硬化性疾患に内皮機能障害が併存していることが報告されており、内皮機能は動脈硬化の進展に重要な役割を果たしていることが考えられるが、内皮細胞の機能の指標は依然として数少なく、血管トーン調整や NO の産生能以外にはっきりしたことはわかっていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は血管内皮細胞においてストレス下に形成される vesicle 構造に注目し、これと内皮機能についての検討を行うことである。またこの vesicle 構造と活性酸素、あるいは free cholesterol rich な膜 domain である Lipid Raft との関連を明らかにし、内皮細胞障害がこれらの mechanism を通じてどのように動脈硬化に寄与するかを解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究では血管内皮細胞内外に生じる vesicle 構造の発生、動態、分子との関わり、臨床的な病態との関わりについての検討をすすめる。その検討には細胞内外での vesicle の産生や動態の観察、vesicle の分離及び解析、さらには vesicle 負荷に対する細胞や生体の影響の検討が含まれる。

まず培養内皮細胞への free cholesterol 負荷によって vesicle 形成が生じるが、それがどのような細胞情報伝達経路を通じてなされるかを詳細に検討する。次にこの vesicle の形成によって細胞機能がどのように変化するかを特に内皮細胞機能の関連 (NO 産生能、免疫細胞との接着) について検討する。次に細胞外へ産生される内皮細胞由来の Microparticle に対する検討を加える。

1) Microparticle がどのように産生されるか、2) それがどのような性質をもつものか、3) それがどのように他の細胞にはたらくか 4) 臨床的な疾患とどのような関連があるか、以上のような側面から解析を加える。

## 4. 研究成果

今回 Free cholesterol 負荷によって内皮細胞内に vesicle が産生されたが、それらは電

子顕微鏡の観察によって multivesicular body を呈していた。同様に免疫染色によって vesicle 構造の周囲に lysosome 関連膜蛋白の存在が確認された。これらの存在により、例えば Angiotensin II などの活性酸素の刺激が加わると endothelial nitric oxide synthase の障害を引き起こし、NO 産生の障害につながることを確認された。vesicle 構造の存在は内皮機能障害を反映した細胞変化と考えられた。また細胞外、例えば血液中に観察されるような内皮細胞由来の vesicle 構造の存在は内皮細胞障害を反映していることが示唆され、新たな biomarker の可能性を有した。この一種である Microparticle は内皮細胞膜の変形過程である blebbing という現象から生じることが観察され、内皮細胞の細胞膜は常に dynamic に変化し、細胞外へさまざまな signal を発していることが観察された。またこの blebbing の現象に、細胞内の vesicle 構造と同様に lysosome の細胞内器官の関与が示唆される所見が認められた。

## 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 0 件)

[学会発表] (計 9 件)

1) 第 58 回日本心臓病学会学術集会 (東京: 2010 年 9 月 17 日~19 日)

網谷英介 前村浩二 齊藤哲也 細谷弓子 中尾倫子 今井靖 渡辺昌文 永井良三

Angiotensin II と Free Cholesterol は細胞内 raft domain を通じて血管内皮障害に相乗的に作用する。

2) 第 13 回血管カンファレンス(大宮: 2010 年 6 月 4 日)

網谷英介、前村 浩二、齊藤 哲也、細谷 弓子、中尾 倫子、今井 靖、渡辺 昌文、永井 良三

Angiotensin II と Free Cholesterol は細胞内 raft domain を通じて血管内皮障

- 害に相乗的に作用する
- 3) 第1回 Advance 研究会 (名古屋: 2009年12月26-27日)  
網谷英介、前村浩二、齊藤哲也、細谷弓子、中尾倫子、今井靖、渡辺昌文、永井良三  
Angiotensin II と Free Cholesterol は細胞内 raft domain を通じて血管内皮障害に相乗的に作用する
- 4) 第1回東京レニンアンジオテンシン研究会 (東京: 2009年12月12日)  
網谷英介、前村浩二、齊藤哲也、細谷弓子、中尾倫子、今井靖、渡辺昌文、永井良三  
Angiotensin II と Free Cholesterol は細胞内 raft domain を通じて血管内皮障害に相乗的に作用する
- 5) 第19回東京高血圧研究会 (東京: 2009年9月5日)  
網谷英介、前村浩二、齊藤哲也、細谷弓子、中尾倫子、今井靖、渡辺昌文、永井良三  
Angiotensin II と Free Cholesterol は細胞内 raft domain を通じて血管内皮障害に相乗的に作用する
- 6) 第7回血液・血管オルビスシンポジウム (東京: 2009年8月22-23日)  
網谷英介、前村浩二、齊藤哲也、細谷弓子、中尾倫子、今井靖、渡辺昌文、永井良三  
Angiotensin II と Cholesterol は細胞内 raft domain を通じて血管内皮機能障害に相乗的に作用する
- 7) 第15回成人病の病因・病態の解明に関する研究会 (軽井沢 2009年7月4-5日)  
網谷英介、前村浩二、齊藤哲也、細谷弓子、中尾倫子、今井靖、渡辺昌文、永井良三

- Angiotensin II と Cholesterol は細胞内 raft domain を通じて内皮機能障害に相乗的に作用する
- 8) 第46回日本臨床分子医学会 (東京: 2009年4月12-13日)  
網谷英介、前村浩二、齊藤哲也、細谷弓子、中尾倫子、今井靖、渡辺昌文、永井良三  
Angiotensin II と Cholesterol は細胞内 raft domain を通じて血管内皮機能障害に相乗的に作用する
- 9) 第73回日本循環器学会総会・学術集会 (大阪: 2009年3月)  
Amiya E, Maemura K, Takeda N, Saito T, Shiga T, Hosoya Y, Nakao T, Imai Y, Watanabe M, Nagai R  
Angiotensin II and Free Cholesterol Synergistically Impaired eNOS Bioavailability via Intracellular Raft-like Domain

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

網谷 英介 (AMIYA EISUKE)  
東京大学・医学部付属病院・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：