

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009 年度～2010 年度

課題番号：21890124

研究課題名（和文） 個体発生と病態形成における動静脈パターンニングの分子基盤の解明

課題名（英文） Analysis of molecular mechanism of arteriovenous patterning

研究代表者

木戸屋 浩康 (KIDOYA HIROYASU)

大阪大学・微生物病研究所・助教

研究者番号：00543886

研究成果の概要（和文）：本研究では、効率的な血管再生を実現するため、形成させた血管の質の改善を目的として apelin/APJ 系の解析を行った。発生過程の皮膚における apelin および APJ の発現を免疫染色にて検討したところ、APJ が胎児の発生に伴い静脈特異的に発現していくことを見いだした。対照的に、apelin の発現は動脈-神経近傍に特異的に認められ、動脈近傍から産生された apelin が静脈の APJ に働きかけ、apelin/APJ 系が静脈形成に働いていることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyze the apelin/APJ system to establish the new method of effective neovascularization therapy. In the skin of mouse embryo, apelin is expressed in artery and APJ is expressed in vein. Moreover we found that apelin produced by artery effect to APJ in vein and contribute to arteriovenous patterning.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	970,000	291,000	1,261,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,170,000	651,000	2,821,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：医化学一般

キーワード：血管新生、血管再生、組織再生

1. 研究開始当初の背景

血管は一部の無血管組織を除いて生体内のあらゆる部分に隈無く分布し、組織の生育のために必須な栄養分や酸素を供給し続け

る重要な器官である。このため、血管の異常や傷害は重大な病態を引き起こすことが知られており、狭心症・心筋梗塞や下肢の閉塞性動脈硬化症などの虚血性疾患の発生に関

係している。さらに、臨床的に最も問題となる癌についても、腫瘍血管新生が癌の増殖、浸潤、転移能といった生物学的特性の要となっていることが明らかになっている。このように、各種の病態発生に対して血管が密接に関連していることを考えると、血管発生および形成過程を明らかにすることが、基礎生物学のみならず臨床医学の発展においても非常に重要であるといえる。これまでに多数の血管新生因子および抑制因子が同定され、ある程度は自由に血管の形成を誘導することが可能となっている。しかしながら、強制的に増殖因子等によって形成させた血管は、不安定で異常な構造を示して機能が低いことが多い。血管再生医療のみならず、組織再生医療の実用化のためにも、酸素・栄養分を供給する機能的な血管網を構築させる手段が求められている。

2. 研究の目的

Apelin はオーファン受容体である APJ のリガンドとして近年発見された生理活性オリゴペプチドであり、その機能は不明であった。そこで、血管形成における Apelin/APJ 系の機能を調べるため、Apelin KO マウスを作成して解析を行ったところ、Apelin/APJ 系が発生期に血管径のサイズを必要な大きさに拡大化させる血管成熟化因子であることが明らかになった。これまでに血管成熟化の分子機構はほとんど明らかになっておらず、Apelin は最初に同定された血管成熟化因子であるといえる (Kidoya H, et al. EMBO J. 2008)。さらに、解析を進める過程にて、apelin/APJ 系が静脈の構造形成に関与していることを示唆するデータが得られた。本研究では、再生医療に向けた効率的な動静脈血管の形成の誘導を可能とするために、apelin/APJ 系の詳細な解析を行った。

3. 研究の方法

(1) apelin および APJ 発現部位の解析

発生過程の静脈に APJ が高発現していることはこれまでに報告されている。今回の実験系では、背部皮下の血管をモデルに用いることにしたので、そこでも APJ が発生過程の静脈にて発現しているかを免疫染色にて解析した。また、リガンドである Apelin がどこから産生されているかを検討するため、動脈、静脈、神経と Apelin を免疫染色にて解析した。また、マウス胎児の皮膚発生モデルを用いて、動静脈の形成と apelin と APJ の発現変化について解析した。

(2) APJ 発現細胞への影響の検討

Apelin 発現細胞が APJ 発現細胞の遊走を誘導することを実験モデルにて確認した。具体的な方法としては、*in vitro* での Transwell を用いた Migration assay、および *in vivo* での Matrigel plug assay を行った。

4. 研究成果

「(1) apelin および APJ 発現部位の解析」の結果、初期血管網のリモデリングによる動脈および静脈の分化・形成の進展に伴って、apelin が動脈および神経近傍、APJ が静脈に発現してくることが示された (図 1 参照)。さらに、apelin 欠損マウスの解析により、apelin/APJ 系が動静脈の相互作用に働いていることが明らかとなった。また、「(2) APJ 発現細胞への影響の検討」により、apelin が APJ を発現している動脈血管内皮細胞に対して遊走活性を示すことが明らかとなった。以上の結果により、apelin/APJ を利用することによって、整合性のとれた構造を持つ動静脈の再生を誘導できる可能性が示され、今後の血管再生医療および組織再生医療への応用が期待できる。

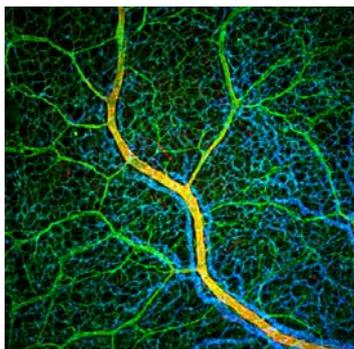


図1、皮膚の結果におけるAPJの発現血管を anti-CD31 抗体(緑色)、動脈を anti-SMA 抗体(黄色)、APJ を anti-APJ 抗体(水色)にて染色した。APJ が静脈血管に特異的に発現していることがわかる。

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 4 件)

- ① Kumasawa K, Ikawa M, Kidoya H, Hasuwa H, Saito-Fujita T, Morioka Y, Takakura N, Kimura T, Okabe M. Pravastatin induces placental growth factor (PGF) and ameliorates preeclampsia in a mouse model. Proceedings of the National Academy of Sciences、査読有、108 巻 (2011) 1451-1455
- ② Kidoya H, Naito H, Takakura N. Apelin induces enlarged and non-leaky blood vessels for functional recovery from ischemia. Blood、査読有、115 巻、2011 (3166-3174)
- ③ Takakura N, Kidoya H. Maturation of blood vessels by haematopoietic stem cells and progenitor cells: involvement of apelin/APJ and angiopoietin/Tie2 interactions in vessel caliber size

regulation. Thrombosis and Haemostasis、査読有 101 巻、2009 (999-1005)

- ④ Naito H, Kidoya H, Sato Y, Takakura N. Induction and expression of anti-angiogenic vasohibins in the hematopoietic stem/progenitor cell population. The Journal of Biochemistry、査読有、145 巻、(2009) 653-659

[学会発表] (計 5 件)

- ① 木戸屋 浩康、Role of microRNAs for tumor angiogenesis and endothelial function、第 18 回日本血管生物医学会学術集会/The 8th Korea-Japan Joint Symposium on Vascular Biology work、(招待講演)、2010 年 12 月 2 日、大阪府大阪市 梅田スカイビル
- ② 木戸屋 浩康、腫瘍血管形成を制御する新規標的 miRNA の同定と機能解析、第 69 回日本癌学会学術総会、2010 年 9 月 23 日、大阪府大阪市 リーガロイヤルホテル
- ③ Hiroyasu Kidoya、Role of specific microRNAs for tumor endothelial function and angiogenesis. 'Angiogenesis': Molecular Mechanisms and Functional Interactions、2010 年 9 月 19 日、Kloster Seeon (Germany)
- ④ Hiroyasu Kidoya、The possibility of the revascularization therapy by a neovascular maturation factor apelin、The 5th international symposium of institute network、2010 年 6 月 24 日、石川県金沢市 KKI ホテル

⑤ 木戸屋 浩康、Apelin による腫瘍血管成熟化は癌免疫療法の効果を改善する、血管生物医学会、2009 年 10 月 9 日、東京都文京区
東京大学

[図書] (計 1 件)

木戸屋 浩康、秀潤社、細胞工学 11 月号、
(2011) 1104-1112

[その他]

ホームページ等

<http://st.biken.osaka-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木戸屋 浩康 (KIDOYA HIROYASU)

大阪大学・微生物病研究所・助教

研究者番号：00543886