

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790886

研究課題名(和文)血小板由来膜小胞体による血管内皮前駆細胞機能増強効果を応用した血管新生療法の開発

研究課題名(英文) Platelet-derived microparticles augment the adhesion and neovascularization capacities of circulating angiogenic cells obtained from atherosclerotic patients

研究代表者

大塚 昌紀(OHTSUKA, MASANORI)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：30461429

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)：本研究では血小板由来膜小胞体(PMP)が血管新生細胞(CAC)の血管新生能力を高めることが出来るか否かについて検討した。ヒト末梢血より採取した血小板を活性化しPMPを抽出した後、ヒト単核球細胞と一定期間の共培養を行った。PMP共培養により得られたCACの接着能は増強し、さらに下肢虚血モデルを用いたレーザーダブルでの血流評価や毛細血管密度評価でも有意な増加を認めた。分泌能評価でもRANTESを高濃度に分泌しており、またRANTES中和抗体との共培養ではPMPにより高められたCACの接着能増強効果は消失した。RANTESがCACの接着能や血管新生増強効果に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated whether PMPs could augment the neovascularization. We isolated mononuclear cells and PMPs from atherosclerotic patient-derived peripheral blood and generated PMP-pretreated CACs(PMP-CACs) by co-culture of the mononuclear cells and PMPs. The adhesion capacity of PMP-CACs was greater than that of CACs. PMPs released RANTES into the culture medium. Intravenous injection of PMP-CACs to rats with hindlimb ischemia augmented neovascularization of the ischemic limbs more than the injection of CACs. The number of PMP-CACs incorporated into the capillaries of the ischemic limbs was greater than that of incorporated CACs. The augmented adhesion and neovascularization capacities by PMP-CACs were canceled out by a RANTES neutralizing antibody. PMP-secreted RANTES may play a role in the augmenting adhesion and neovascularization capacities of CACs. Injection of PMP-CACs may be a new strategy to augment the effects of therapeutic angiogenesis for limb ischemia in atherosclerotic patients.

研究分野：循環器内科学

科研費の分科・細目：分子血管病態学

キーワード：血管新生細胞 血小板由来膜小胞体 RANTES 血管新生

様式 C - 19、F - 19、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々の施設では重症虚血下肢を救済すべく、血管新生細胞(circulating angiogenic cell)を応用した血管新生療法を実施しているが、その中には十分な効果が得られない例も存在する。動脈硬化危険因子がCACの細胞機能を低下させていることが原因の一つと考えられ、今後、低下したCACの細胞機能をあらかじめ回復もしくは増強させることが必要と考えられている。近年、血小板由来膜小胞体(platelet-derived micro particle: PMP)が造血幹・前駆細胞と接着し、その細胞機能を高めたとの報告がある。

2. 研究の目的

動脈硬化危険因子を保有する患者由来CACsの血管新生能力をPMPsが増強させることが出来るか否か *in vitro* および *in vivo* 実験で評価する。

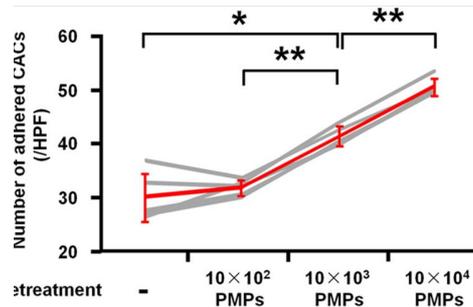
3. 研究の方法

動脈硬化危険因子を有する患者末梢血から単核球細胞と多血小板血漿を採取、血小板をトロンボキサン様物質で活性化させ、PMPを単離回収した。同単核球細胞とPMPの共培養で得られたCAC(PMP-CAC)の細胞能力を *in vitro* アッセイで評価し、PMPから分泌されたサイトカインをサンドイッチ免疫アッセイで評価した。またPMP-CACを下肢虚血動物モデルへ経血管的に投与し、*in vivo* における血管新生効果の変化を評価した。

4. 研究成果

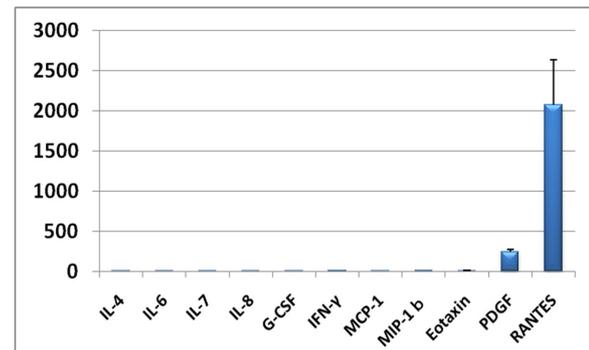
PMP-CACの接着能は有意に増加した。さらに混合数依存性に増加した。

(接着能評価)



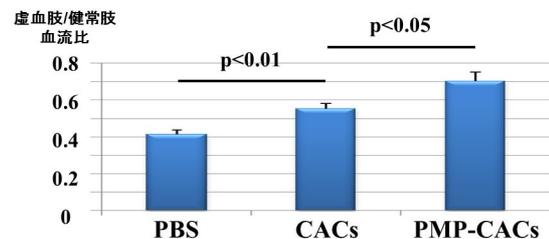
PMPからは多量のRANTESが分泌されていた。

(分泌能評価)

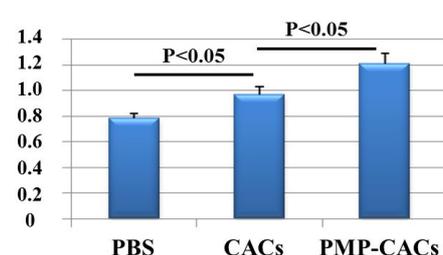


血管内投与されたPMP-CACはCAC単独投与群に比べ、虚血肢の血流や毛細血管密度を有意に増加させていた。

(血流評価)

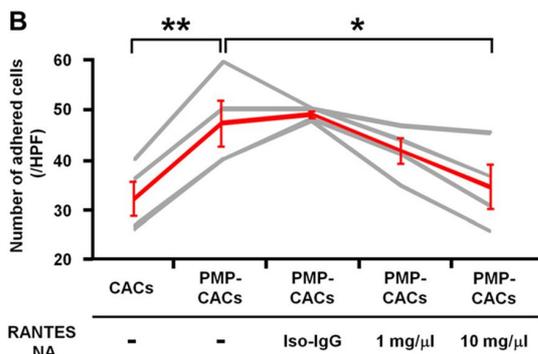


(毛細血管密度評価)



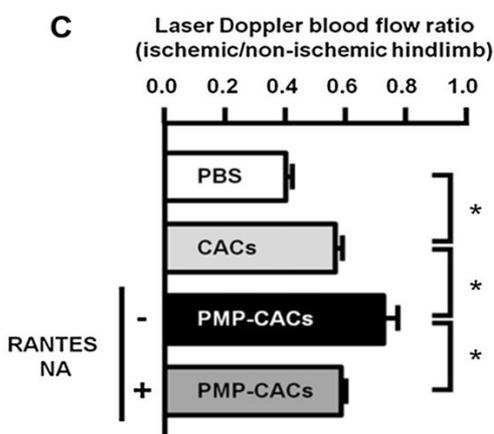
RANTES 中和抗体との共培養ではPMP により高められた CAC の接着能増強効果は消失した。

(接着能評価)

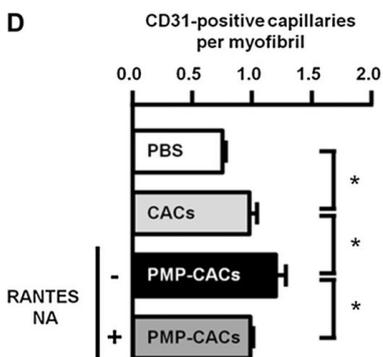


PMPs 共培養によって増強された CACs の体内血管新生能力は、RANTES 中和抗体の CACs 培養液内投与で減弱した。

(血流評価)



(毛細血管密度評価)



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)

大塚昌紀、佐々木健一郎、今泉勉
Platelet-derived microparticles augment the adhesion and neovascularization capacities of circulating angiogenic cells obtained from atherosclerotic patients. *Atherosclerosis*, 査読有, 227 巻, 2013, 275-282, DOI:org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.01.040

[学会発表](計1件)

第76回日本循環器学会学術集会
2013年3月18日 福岡国際会議場
大塚昌紀
Platelet-derived microparticles augment the adhesion and neovascularization capacities of circulating angiogenic cells obtained from atherosclerotic patients.

[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

大塚 昌紀 (OHTSUKA MASANORI)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：30461429

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

()

研究者番号：