

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16597

研究課題名(和文)細胞間情報伝達を司るエクソソームの動脈硬化に与える影響と治療への応用

研究課題名(英文)The effect and application to the treatment of atherosclerosis by exosome governing the information transmission system between cells

研究代表者

松田 大介(MATSUDA, Daisuke)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：90780883

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト血管内皮細胞およびヒト血管平滑筋細胞の培養法を確立し、エクソソームを抽出した。超遠心法、共沈法、免疫法の各方法で抽出されたエクソソームをフローサイトメータ、動的光散乱装置によって解析したところ、共沈法による抽出法が最も量的な抽出量が多いことがわかった。並行してApoEノックアウトマウスを用いて、アンジオテンシンII持続投与ポンプを用いて刺激し、大動脈瘤形成マウスを作成できた。血清飢餓環境下においたヒト平滑筋細胞に対してアンジオテンシンII刺激を行い、増殖型マーカーであるSmembの発現を確認できた。同細胞よりエクソソームを抽出した。今後追加検討を行う。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動脈硬化に関連する細胞におけるエクソソームに関する研究の足がかりとなった。動脈瘤のモデルマウスを確立し、瘤形成に関わる細胞の表現型を確認し、動脈瘤形成におけるメカニズムを解明する一歩となり得る。より踏み入れたエクソソームの遺伝学的情報を追求していくための基盤ができたと考えられる。

研究成果の概要(英文)：A method for culturing human vascular endothelial cells and human vascular smooth muscle cells was established, and exosomes were extracted. The exosomes extracted by the ultracentrifugation method, coprecipitation method, and immunoassay method were analyzed by a flow cytometer and a dynamic light scattering device. The coprecipitation method was revealed as the most quantitative extraction. ApoE knockout mice were used to stimulate with angiotensin II continuous administration pump, and aortic aneurysm forming model mice could be generated. Human smooth muscle cells were stimulated with angiotensin II, and the expression of Smemb, a proliferative type marker, could be confirmed. The exosomes were extracted from the stimulated smooth muscle cells, and additional experiment was planned.

研究分野：血管外科学

キーワード：エクソソーム 動脈硬化 腹部大動脈瘤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

動脈硬化性疾患は、高齢化や生活スタイルの変化などによってその頻度は上昇しつつあり、悪性新生物に次ぐ死因の大きな位置を占めている。そのため、動脈硬化への理解の深化と治療の確立は重要な課題である。

2. 研究の目的

動脈硬化は血管の疾患であるが、血管内皮や血管平滑筋に加え、マクロファージや T リンパ球など様々な細胞が相互に関連し進展していく。近年、エクソソームという細胞外に分泌される小胞が、そのユニークな性質から注目され様々な血管疾患との関連が示されてきた。

今回、我々はエクソソームに着目し、動脈硬化の新しい側面を明らかにし、その進展・発症の予防や治療に新たな可能性を見出したい。

3. 研究の方法

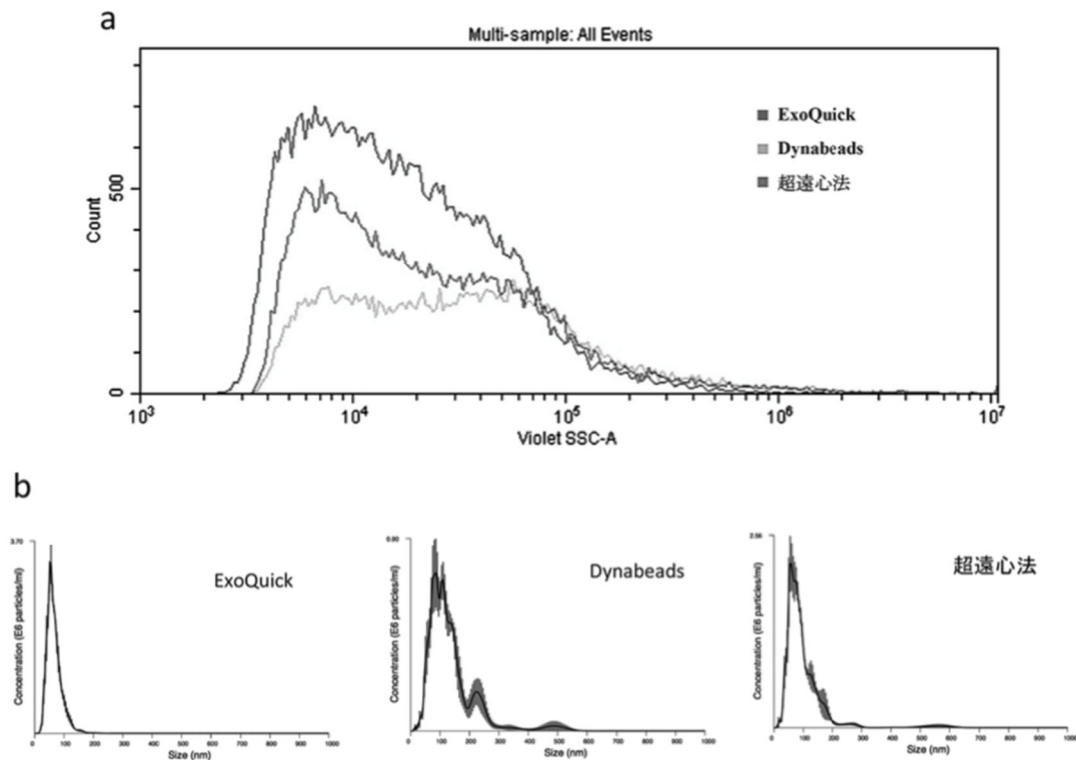
(1) ヒト血管平滑筋細胞、ヒト血管内皮細胞を用いて超遠心法、共沈法、免疫法にてエクソソームを抽出しその最適法を探索する。各方法はフローサイトメータ、動的散乱光装置にて解析し、最適法を検討する。

(2) ApoE ノックアウトマウスを用いて、Angiotensin II 刺激を行い、大動脈瘤モデルマウスを作成する。

(3) 瘤形成に至る中で重要な働きをする血管平滑筋細胞について Angiotensin II 刺激を行い、抽出したエクソソームの検討を行う。

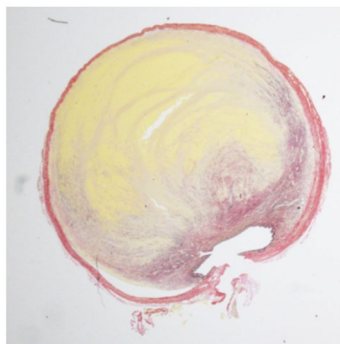
4. 研究成果

(1) 各方法で抽出したエクソソームをフローサイトメータ、動的散乱光装置にて解析したところ、下記結果であった(図1)。超遠心法や免疫法で得られた粒子は夾雑物が多いことが示唆された。また、粒子カウント数でも共沈法でのカウント数が最多であり、得られたペレット量も多く、追加解析に利用しやすいことが示唆された。

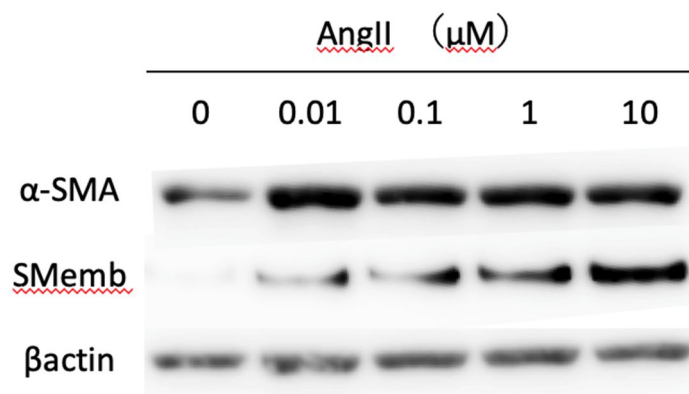
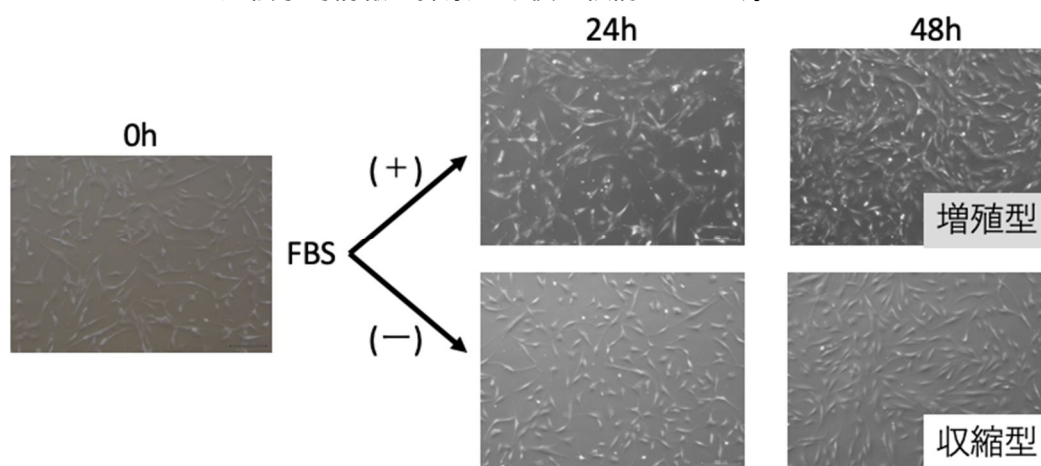


a) フローサイトメーター, b) 動的散乱光装置

(2) ApoE ノックアウトマウスに Angiotensin II 刺激を行うことで大動脈瘤形成マウスを作成できた。病理学的評価を行い、動脈瘤であることを確認した。



(3) ヒト血管平滑筋細胞を血清飢餓環境下におき、収縮型への形態変化を確認した。Angiotensin II 刺激を行い、Western blotting により Angiotensin II 用量依存的に増殖マーカーである SMemb が増加していた。同細胞からのエクソソーム抽出を行った。抽出されたエクソソームの遺伝学的情報の探索を今後も検討していく。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----