

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18590798
 研究課題名（和文） プロスタノイドの血管病変形成における役割－骨髄細胞分化に及ぼす影響－
 研究課題名（英文） Role of prostanoids in vascular remodeling
 (Effects of prostanoids on bone marrow cells)

研究代表者
 川辺 淳一（KAWABE JYUNICHI）
 旭川医科大学・医学部・特任准教授
 研究者番号：10400087

研究成果の概要：

骨髄選択的にプロスタサイクリン受容体欠損させたマウスを利用して、「骨髄の IP 欠損は、血管リモデリング増悪に重要であること」をあきらかにし、「骨髄由来内皮前駆細胞（EPC）の機能維持にプロスタノイドなかでも、プロスタサイクリン（PGI₂）系が重要な役割をはたすこと」、さらに、骨髄特異的にプロスタサイクリン受容体（IP）を欠損させたマウス実験動物を用いて、「血管リモデリング、末梢虚血などの病態にEPCのPGI₂/IP系が重要であること」を明らかにし、本研究申請目標のほとんどを達成したものとする。

なお、本研究の成果のうち、（1）血管リモデリングに関する研究は、すでに投稿中である。（2）末梢虚血性疾患におけるEPCに関する研究は、現在投稿準備中である。本研究の成果として重要な点として、強力な抗動脈硬化作用をもつPGI₂の、新たな作用機序を明らかにしたこと、ユニークな実験動物モデルの作成により、in vivo 各種病態でのEPCの役割、重要度などを明らかにしたこと。また、すでに臨床利用されているIP刺激薬のさらなる応用性についても提唱した点も重要である。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	2,700,000	0	2,700,000
2007年度	500,000	150,000	650,000
2008年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	270,000	3,870,000

研究分野：心血管病学

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：動脈硬化、骨髄細胞、再生医学、プロスタサイクリン

1. 研究開始当初の背景

骨髄由来細胞、とりわけ内皮前駆細胞（EPC）が、虚血臓器における血管新生や、障害血管の修復（再内皮化）に重要な役割があることがわかり、また、その機能異常が心血管系の病態に大きく関与することが明らかになってきた。これらの細胞を利用する細胞導入医療への応用研究も着手されてきた。しかし、このEPCの機能調節に関する機序については、不明な点が多く、機能を保持したEPCを利用する方策がないという現状であった。

2. 研究の目的

我々は、“PGは骨髄内皮前駆細胞（EPC）の血管系細胞への分化増殖に作用し、動脈硬化病変進展に関与する。”という仮説をたて、以下の目的をあげた。

目的1：血管病変におけるPGの骨髄由来の細胞への関与を明らかにする

目的2：骨髄前駆細胞の内皮、平滑筋細胞分化へのPGの作用機序を明らかにする

3. 研究の方法

目的1:血管病変におけるPGの骨髄由来の細胞への関与を明らかにする

(1) 骨髄移植:血管組織中の骨髄由来細胞を同定するために性不一致骨髄移植法を利用。

(2) 大腿動脈障害モデルの作製:大腿動脈内部をspring wireにより障害。

(3) 血管障害部位における内膜肥厚および骨髄由来細胞の評価:摘出血管の短軸切片標本を作製。

(4) 血管障害部位における細胞の状態評価

(5) PG効果の機序に関する解析

目的2：骨髄細胞前駆細胞の内皮/平滑筋細胞分化へのPGの作用機序を明らかにする

(1) 外因性PG刺激による骨髄細胞の前駆細胞の分化形態の解析:wildマウス大腿骨から骨髄細胞を採取し、各種の培地条件で培養。

(2) PG受容体KOマウス由来の骨髄細胞を用いて、その分化形態の解析:各PG受容体(IP, TP, EP2)-KOマウスから骨髄細胞を調整し、骨髄細胞分化について解析

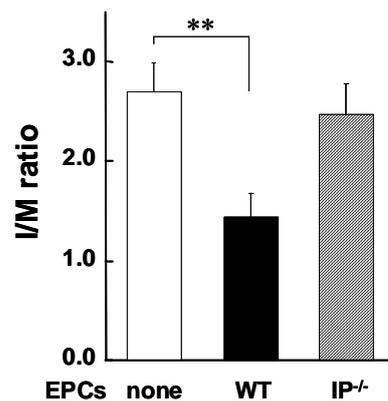
(3) 他細胞を介するPGの細胞分化作用の検討: 前駆細胞におけるPGの

(4) 増殖因子等とPGの関係についての検討

4. 研究成果

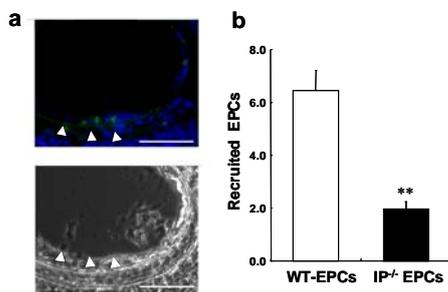
1. 骨髄内プロスタサイクリン系が、EPCを介した血管障害リモデリング調節に重要である。

骨髄選択的PG受容体(IP, TP, EP2, EP4)欠損マウスモデルをもちいた検討から、骨髄PGI/IP欠損マウスにおいて、血管リモデリングが増悪することを確認。さらに、この現象にEPC機能低下が寄与することを確認(下図1;骨髄IP欠損により新生内膜肥厚(I/M比)増強したもの(none群)が、外因的Wt由来EPCを導入することにより、改善するが、IP欠損由来EPCでは、その効果が認められない)



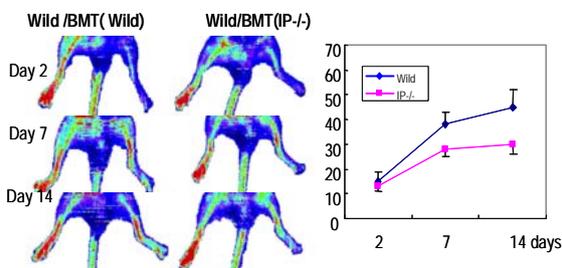
2. EPC細胞は、PGIのオートクライ
ン系をもち、その機能維持に重要である。

WtおよびIP欠損マウス由来のEPC
を精製し、増殖能、遊走能、分化能などの細
胞機能を評価。EPCのPGI・IP系は、
integrins系発現調節を介して、細胞外基質
への接着能維持に重要であることを明らか
にした。(下図2 障害血管壁へのEPC接
着能は、障害血管修復に重要なステップで
あるが、IP欠損EPCでは著明に低下して
いた。)



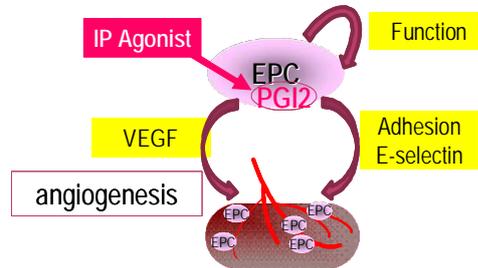
3. EPCのPGI/IP系は、虚血臓器
での血管新生にも重要な役割を果たす。

障害血管リモデリング以外に、下肢虚血モ
デルを用いて、EPCのPGI/IP系が、
虚血-血管新生による虚血改善の機序に重
要な役割を果たすことを明らかにした。(下
図3 骨髄選択的にIP欠損させたマウス
において、下肢虚血による血流改善度は著明
に低下。これはWt由来のEPC導入によ
り改善、しかしIP欠損EPCでは、血流改
善効果は認められない。)



4. EPCにおけるPGI/IP系の役割
を確立

以上の一連の in vitro および血管障害、虚
血モデルを用いた in vivo の研究から、以
下のEPCにおけるPGI/IP系の重要な
役割について明らかにした。



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)

[学会発表] (計7件)

1. Yamauchi A, Kawabe J, Kanno T, Kanno T, Ushikubi F, Hasebe N Prostacyclin System in Endothelial Progenitor Cells is crucial for Regulation of Vascular Remodeling through their Recruitment to injured Vascular Walls. 日本循環器学総会 March 21, 2009 (大阪)
2. Okada M, Kawabe J, Aburakawa Y, Kanno T, Ushikubi F, Hasebe N Prostacyclin relieves peripheral ischemia through enhancement of critical functions of endothelial progenitor cells. 日本循環器学総会 March 22, 2009 (大阪)
3. Okada M, Kawabe J, Aburakawa Y, Kanno T, Ushikubi F, Hasebe N Prostacyclin relieves peripheral ischemia through enhancement of critical functions of endothelial progenitor cells. American Heart Association, Scientific Internal Meeting, Nov 10, 2008 (New Orleans, USA)
4. Sasaki T, Okumura S, Shibukawa K, Osanai S, Kawabe J, Ohsaki Y Impaired functional endothelial progenitor cells inhibited growth of Prostacycline signaling as a target for cancer therapy -.AACR(アメリカ癌研究学会) April 12, 2008 (San Diego, USA).
5. Kawabe J, Kanno T, Tashiro N, Okada M, Yuhki K, Ushikubi F, Hasebe N. Role of Autocrine Prostacyclin System in Crucial Functions of Endothelial Progenitor Cells. 日本循環器学会 March 28, 2008 (福岡)

6. **Kawabe J**, Yuhki K, Kannno T, Hasebe N, **Ushikubi F** Deletion of prostacyclin-receptor in bone marrow attenuates differentiation of endothelial progenitor cells, and Enhances Vascular Intimal Hyperplasia Circulation American Heart Association, Scientific Internal Meeting, Nov 7 2007 (Orland, USA)
7. **Kawabe J**, Kanno T, Yuhki K, Hasebe N, Kikuchi K, **Ushikubi F** Deletion of PGI₂-receptor (IP) in Bone Marrow Enhances Progenitor Cells-Mediated Vascular Intimal Hyperplasia 日本循環器学会 March 15, 2007 (神戸)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 3 件)

名称：内皮前駆細胞の増殖分化誘導方法

発明者：川辺淳一、牛首文隆

権利者：国立大学法人旭川医科大学

種類：国際出願

番号：2008C4732

出願年月日：2008年10月30日

国内外の別：国外

名称：プロスタサイクリン受容体拮抗薬の癌特異的導入剤による癌治療薬

発明者：川辺淳一、長谷部直幸、大崎能伸

権利者：国立大学法人旭川医科大学

種類：特許庁出願

番号：2008P4321

出願年月日：平成20年3月7日

国内外の別：国内

名称：プロスタサイクリン受容体拮抗薬の癌特異的導入剤による癌治療薬

発明者：川辺淳一、長谷部直幸、大崎能伸

権利者：国立大学法人旭川医科大学

種類：国際出願

番号：2008C4733

出願年月日：平成20年10月14日

国内外の別：国外

○取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川辺 淳一 (KAWABE JYUNICHI)

旭川医科大学・医学部・特任准教授

研究者番号：10400087

(2) 研究分担者

牛首 文隆 (USHIKUBI FUMITAKA)

旭川医科大学・医学部・教授

研究者番号：50243035

(3) 連携研究者

該当なし