

平成 21 年 3 月 12 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007 年度～2008 年度
 課題番号：19590079
 研究課題名 (和文) 泡沫細胞崩壊 (アポトーシス) による粥状動脈硬化進展機構の解析
 研究課題名 (英文) Molecular mechanism of the progression of Atherosclerosis triggered by degradation of foam cells
 研究代表者
 山口 真二 (YAMAGUCHI SHINJI)
 帝京大学・薬学部・助教
 研究者番号：60398740

研究成果の概要：

高脂血漿が引きがねとなる動脈硬化が進行する過程において、マクロファージは動脈壁に流入してくる過剰のリポタンパク質ならびに変性リポタンパク質を細胞内に取り込み泡沫化する。肥大化した泡沫細胞は動脈壁内で崩壊し、変性リポタンパク質が細胞間に放出されるにともない、粥腫が形成される。ヒト高脂血症患者血清から、泡沫細胞誘導・崩壊泡沫細胞の崩壊をひき起こす因子の同定を試みている。また、泡沫細胞崩壊機構のメカニズムがアポトーシスによることを示した。これらの成果を、原著論文 *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **29**, 33-39(2009)、*J Lipid Res.* **48**, 1280-1292 (2007) で報告した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：①粥状動脈硬化 ②マクロファージ ③泡沫細胞 ④酸化リポタンパク質 ⑤アポトーシス

1. 研究開始当初の背景

リポタンパク質のコレステロールは動脈壁細胞膜の構成成分として利用されている。マクロファージは動脈壁に流入してくる過剰のリポタンパク質ならびに変性リポタンパク質を細胞内に取り込み泡沫化する。肥大化した泡沫細胞は動脈壁内で崩壊し、変性リポタンパク質が細胞間に放出されるにともない、粥腫が形成される

(作業仮説)。

2. 研究の目的

高脂血漿－泡沫細胞の形成－泡沫細胞の崩壊－動脈硬化粥腫巣への変性リポタンパク質の放出・細胞間酸化リポタンパク質の生成－変性リポタンパク質の細胞内取り込み－泡沫細胞のさ

らなる肥大化と崩壊—粥状動脈硬化進展という悪循環の観点から解析を試みた。

3. 研究の方法 及び4. 研究成果

試験管内で先天性高脂血症家兎 (WHHL) 血清をマクロファージに加えると、泡沫化が誘導されると同時に、泡沫細胞の崩壊も誘導される。しかも、ヒト高脂血症患者血清でも、12症例中6症例で泡沫細胞誘導・崩壊が観察された。このことは、WHHL 血清、ヒト血清ともに泡沫細胞の崩壊を誘導する因子を含んでいることを示している。分離したLDLやVLDLなどは、泡沫化は誘導するが、泡沫細胞の崩壊をほとんど誘導しない。したがって、高脂血症患者血清中から、泡沫細胞誘導・崩壊因子を精製しようと試みている。しかし、興味深いことに、これまでに、泡沫細胞崩壊活性は、硫酸沈殿、カラムクロマトグラフィーによりうまく分離されず、様々な画分に広く検出されることから、既存のタンパク質が担っていない可能性が考えられた。実体については、まだ不明であり現在解析中である。また、泡沫細胞の崩壊機構のメカニズムがアポトーシスによるのではないかと考え、解析をおこなっている。

次に泡沫細胞の崩壊機構を探ることとした。泡沫細胞の崩壊には256C抗体が認識する抗原物質 (cholesterol-phospholipid 複合体) の増加が関連しているらしい。崩壊泡沫細胞は256C抗体で組織染色されるばかりではなく、フィリピン (free cholesterol を染色) でも染色されるようになる。実際、free cholesterol 量の定量を試みると、崩壊前に増加していることが分かる。泡沫細胞の崩壊を誘導しないLDLやVLDLなどではcholesterol-phospholipid 複合体は増加しない。この時、tunnelによっても染色されることからアポトーシスにより細胞死が誘導されていると結論した。

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)

〔雑誌論文〕(計 7件)

①Kato, R.,Mori, C.,Kitazato, K.,Arata, S.,Obama, T.,Mori, M.,Takahashi, K.,Aiuchi, T.,Takano, T.,Itabe H.

Transient increase in plasma oxidized LDL during the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. **29**,33-39(2009).

査読：有

②Iijima, R., Kunieda, T., Yamaguchi, S., Kamigaki, H., Fujii-Taira, I., Sekimizu, K., Kubo, T., Natori, S. and Homma, K. J.

The extracellular adenosine deaminase growth factor, ADGF/CECR1, plays a role in *Xenopus* embryogenesis via the adenosine/P1 receptor
J.Biol.Chem. **283**, 2255-2264(2008)

査読：有

③Yamaguchi, S., Fujii-Taira, I., Katagiri, S., Izawa, E., Fujimoto, Y., Takeuchi, H., Takano, T., Matsushima, T. and Homma, K. J.

Gene expression profile in cerebrum in the filial imprinting of domestic chick (*Gallus gallus domesticus*)

Brain Res. Bull. **76**, 275-281(2008)

査読：有

④Yamaguchi, S., Fujii-Taira, I., Murakami, A., Hirose, N., Aoki, N., Izawa, E., Fujimoto, Y., Takano, T., Matsushima, T., and Homma, K. J.

Up-regulation of microtubule-associated protein 2 accompanying the filial imprinting of domestic chick (*Gallus gallus domesticus*)

Brain Res. Bull. **76**, 282-288(2008)

査読：有

⑤Yamaguchi, S., Katagiri, S., Hirose, N., Fujimoto, Y., Mori, M., Fujii-Taira, I., Takano, T., Matsushima, T. and Homma, K. J.

In vivo gene transfer into newly-hatched chick brain by electroporation

Neuroreport, **18**, 735-739 (2007)

査読：有

⑥Ohira, K., Funatsu, N., Homma, K. J., Sahara, Y., Hayashi, M., Kaneko, T. and Nakamura, S.

Truncated TrkB-T1 regulates the morphology of neocortical layer I astrocytes in adult rat brain slices
Eur. J. Neurosci., **25**, 406-416 (2007)

査読：有

⑦Fujimoto, Y., Itabe, H., Kinoshita, T., Homma, K. J., Onoduka, J., Mori, M., Yamaguchi, S., Makita, M., Higashi, Y., Yamashita, A. and Takano, T.

Involvement of long chain acyl-CoA synthetase in local synthesis of neutral lipids in cytoplasmic lipid droplets in human hepatocyte HuH7.

J Lipid Res. **48**, 1280-1292 (2007)

査読：有

〔学会発表〕(計 12件)

①発表者：片桐幸子、広瀬直樹、山口真二、平郁子、藤本康之、高野達哉、松島俊也、本間光一

発表標題：RNAiによるニワトリヒナ大脳での特異的遺伝子抑圧系の確立

学会名：日本薬学会128回大会

発表年月日：2008.03

- ②発表者：本間 光一
発表標題：大脳領野への神経細胞選択的遺伝子導入法を利用した鳥類刻印付けの分子機構の解明
学会名：特定領域研究「統合脳」夏のワークショップ 合同班会議、統合シンポジウム、サテライトシンポジウム
発表年月日：2008. 08. 07.
発表場所：北海道厚生年金会館（ウエルシテイ札幌）
- ③発表者：片桐 幸子、山口 真二、平 郁子、本間 光一
発表標題：鳥類刻印付けの分子基盤の解明
学会名：日本薬学会 生物系薬学部会「フォーラム・バイオフィォーラム 2008」
発表年月日：2008. 11. 29
発表場所：日本薬学会長井記念ホール
- ④発表者：本間 光一
発表標題：大脳領野への神経細胞選択的遺伝子導入法を利用した鳥類刻印付けの分子機構の解明
学会名：特定領域研究「統合脳」5 領域冬の公開シンポジウム、合同領域班会議
発表年月日：2008. 12. 14
発表場所：一ツ橋学術総合センター
- ⑤発表者：本間 光一、山口 真二
発表標題：鳥類の VSP
発表年月日：2008. 03
発表場所：自然科学研究機構生理学研究所
- ⑥発表者：片桐幸子、廣瀬直樹、山口真二、藤本康之、松島俊也、高野達哉、本間光一
発表標題：In vivo エレクトロポレーション法による鳥類生後脳における神経細胞選択的遺伝子導入
学会名：遺伝子・デリバリー研究会第 7 回シンポジウム
発表年月日：2007. 05
- ⑦発表者：Homma, K. J., Yamaguchi, S.
発表標題：Gene expression profiling associated with the filial imprinting of domestic chicks
学会名：IBRO satellite on 'Brain Mechanisms, Cognition and Behaviour in Birds.'
発表年月日：2007.07.21
発表場所：Heron Island, Queensland, Australia
- ⑧発表者：Yamaguchi, S., Homma, K. J.
発表標題：In vivo gene transfer into neuronal

cells of newly-hatched chick brain

学会名：IBRO satellite on 'Brain Mechanisms, Cognition and Behaviour in Birds.'

発表年月日：2007.07.21

発表場所：Heron Island, Queensland, Australia

- ⑨発表者：廣瀬直樹、片桐幸子、山口真二、藤本康之、松島俊也、高野達哉、本間光一

発表標題：鳥類の大脳神経細胞選択的な in vivo 遺伝子導入法の確立

学会名：日本神経科学会 30 回大会

発表年月日：2007. 09

- ⑩発表者：山口真二、國枝武和、飯島亮子、神垣ひろこ、平郁子、久保武雄、名取俊二、本間光一

発表標題：細胞外アデノシンデアミナーゼのアフリカツメガエル胚発生での機能解析

学会名：日本生化学会 80 回大会

発表年月日：2007. 12

- ⑪発表者：藤本康之、板部洋之、木下哲昭、本間光一、山口真二、小野塚潤、山下純、前田正知、高野達哉

発表標題：脂肪滴アシル CoA 合成酵素

学会名：日本生化学会 80 回大会

発表年月日：2007. 12

- ⑫発表者：平郁子、山口真二、飯島亮子、名取俊二、本間光一

発表標題：ショウジョウバエ細胞膜型ステロイド結合蛋白によるエクダイソン情報伝達の調節

学会名：日本生化学会 80 回大会

発表年月日：2007. 12

〔図書〕（計 1 件）

著者：Itabe, H., Masuda, Y., Sasabe, N., Kitazato, K., Arai, H., Takano, T.

出版社：Springer

書名：New Frontier in Lifestyle-Related Diseases. Regulation of Intracellular Lipid Storage and Adipose Differentiation-Related Protein (ADRP)

発行年：2008 年

ページ：p 81 - 88

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平成19年度

高野 達哉 (TAKANO TATSUYA)

帝京大学・薬学部・教授

研究者番号：40124995

平成20年度

高野達哉の定年退職に伴い研究分担者であった

山口 真二 (帝京大学・薬学部・助教) を研究

代表者に変更

山口 真二 (YAMAGUCHI SHINJI)

帝京大学・薬学部・助教

研究者番号：60398740

(2) 研究分担者

平成19年

山口 真二 (YAMAGUCHI SHINJI)

帝京大学・薬学部・助教

研究者番号：60398740

本間 光一 (HONMA KOICHI)

帝京大学・薬学部・准教授

研究者番号：90251438

(3) 連携研究者

平成20年度より 本間 光一 (帝京大学・薬

学部・教授) を研究分担者から連携研究者に変更

本間 光一 (HONMA KOICHI)

帝京大学・薬学部・准教授

研究者番号：90251438