

平成 21 年 6 月 11 日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19790200  
 研究課題名（和文） 血管内皮細胞作働分子の相互作用による血管機能の病的変化の誘導機構に関する研究  
 研究課題名（英文） Mechanisms of vascular dysfunction induced by the interaction of vasoactive molecules.  
 研究代表者 藤田 佳子 (FUJITA YOSHIKO)  
 国立循環器病センター研究所・脈管生理部・室員  
 研究者番号：30416218

研究成果の概要：本研究の目的は、血管病変を引き起こす病態下で特徴的に内皮細胞に働いてその機能変化を導き、ひいては病態全体に影響を与える分子について、その意義を明らかにすることである。血管病変を引き起こす分子として注目されている酸化 LDL の受容体である LOX-1 と C-reactive protein(CRP)について研究を行った。その結果、LOX-1 に CRP が結合し、血管反応に関与していることが明らかとなった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	0	1,700,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬理学一般

キーワード：循環

## 1. 研究開始当初の背景

人口の高齢化と食生活の欧米化に伴い、高血圧、糖尿病、高脂血症、肥満などの生活習慣病が増えてきており、血管病変を伴う動脈硬化や虚血性心疾患などの予後の対策が求められている。動脈硬化などの血管病変を引き起こす病態を解明するために、血管の機能、血管内で起きている炎症が注目されている。特に、血管内皮細胞が障害を受けることが血管病変に関わっていると考えられるようになってきた。高脂血症下では、LDL コレステロールが酸化された、酸化 LDL の役割が示唆され、血管内皮の酸化 LDL 受容体 LOX-1 が酸化 LDL と協調して影響を与えることもわかっ

てきた。一方、CRP は、炎症マーカーとして古くから使用されてきたが、単なるマーカーではなく、機能分子として血管内皮に作用し、内皮障害を引き起こすことが示され、注目されている。

## 2. 研究の目的

血管内皮細胞に働いて機能変化を導き、病態全体に影響を与える分子について、LOX-1 との関連を中心に、その意義を明らかにしていく。CRP と LOX-1 の相互作用、またそれによって惹起される血管反応について検討を行う。

## 3. 研究の方法

CRP と LOX-1 の結合についてドキシサイク

リン誘導型 LOX-1 発現細胞を作製し、蛍光標識した CRP の結合を確認する。無細胞の系において、組み換え蛋白 LOX-1 を固相化し、結合させた非標識 CRP を抗 CRP 抗体によって検出する。また内皮細胞において、siRNA を用いて LOX-1 発現を減少させ、蛍光標識 CRP が LOX-1 を介して結合することを確認する。

in vivo の実験では、病態動物モデルを用いて、CRP の作用と、そこへの LOX-1 の関与について、特に炎症反応を中心に、血管および周囲組織での解析を行う。

#### 4. 研究成果

①心血管病発症リスクの cut-off 値レベルの CRP 濃度で、蛍光標識 CRP が LOX-1 発現細胞株に結合すること、無細胞の系で組換え LOX-1 蛋白を固相化したプレートに非標識 CRP が結合することを明らかにした。

②培養内皮細胞や培養心筋細胞において観察される蛍光標識 CRP の細胞への結合が、LOX-1 に対する siRNA 処理により抑制されることを明らかにした。

③生体内での反応をみるため、LOX-1 発現が高い SHR-SP ラットに CRP を皮内注射し、静注したエバンスブルーの漏出により血管透過性の評価を行った。SHR-SP では WKY と比較し有意に強い CRP による血管透過性の亢進がみられ、それは抗 LOX-1 抗体の投与により抑制された。

酸化 LDL の受容体である LOX-1 が、CRP の受容体でもあることがわかった。2 つの危険因子が共通の分子 LOX-1 を受容体として作用することで心血管病を促進する可能性が示唆された。CRP と LOX-1 の相互作用を抑制することが、より効果のある治療になると考えられる。

#### 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)

著者名 : Fujita Y, Kakino A, Nishimichi N, Yamaguchi S, Sato Y, Machida S, Cominacini L, Delneste Y, Matsuda H, Sawamura T.  
論文標題 : Oxidized LDL receptor LOX-1 binds to C-reactive protein and mediates its vascular effects.

雑誌名 : Clinical Chemistry

査読の有無 : 有

巻 : 55

発行年 : 2009

ページ : 285-294

著者名 : Hu, C., Chen, J., Dandapat, A., Fujita, Y., Inoue, N., Kawase, Y., Jishage, K., Suzuki, H., Li, D., Hermonat, P. L.,

Sawamura, T. and Mehta, J. L.  
論文標題 : LOX-1 abrogation reduces myocardial ischemia-reperfusion injury in mice.

雑誌名 : Journal of Molecular Cellular Cardiology

査読の有無 : 有

巻 : 44

発行年 : 2008

ページ : 76-83

著者名 : Izawa, Y., Yoshizumi, M., Ishizawa, K., Fujita, Y., Kondo, S., Kagami, S., Kawazoe, K., Tsuchiya, K., Tomita, S. and Tamaki, T

論文標題 : Big mitogen-activated protein kinase 1 (BMK1)/extracellular signal regulated kinase 5 (ERK5) is involved in platelet-derived growth factor (PDGF)-induced vascular smooth muscle cell migration.

雑誌名 : Hypertension Research

査読の有無 : 有

巻 : 30

発行年 : 2007

ページ : 1107-1117

著者名 : Hu, C., Dandapat, A., Chen, J., Fujita, Y., Inoue, N., Kawase, Y., Jishage, K., Suzuki, H., Sawamura, T. and Mehta, J. L.

論文標題 : LOX-1 deletion alters signals of myocardial remodeling immediately after ischemia-reperfusion.

雑誌名 : Cardiovasc Research

査読の有無 : 有

巻 : 76

発行年 : 2007

ページ : 292-302

[学会発表] (計 2 件)

発表者 : 藤田佳子

発表標題 : LOX-1 は C 反応蛋白を結合し、その血管に対する反応を媒介する

学会名 : 第 82 回日本薬理学会年会

発表年月日 : 2009 年 3 月 17 日

発表場所 : 神奈川 パシフィコ横浜

発表者 : 藤田佳子

発表標題 : C-reactive protein (CRP) は酸化 LDL 受容体 LOX-1 と協調して補体活性化を引き起こす

学会名 : 第 18 回日本循環薬理学会

発表年月日 : 2008 年 11 月 21 日

発表場所 : 千葉 京成ホテルミラマール

〔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〕

ホームページ等なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

藤田 佳子 (FUJITA YOSHIKO)

国立循環器病センター研究所

脈管生理部・室員

研究者番号：30416218

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし