

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24658243

研究課題名(和文) 血管内皮細胞由来マイクロパーティクルによる新規炎症制御機構の解明と応用

研究課題名(英文) A role of vascular endothelial cell-derived micro-particles in inflammation.

研究代表者

村田 幸久 (MURATA, Takahisa)

東京大学・農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：40422365

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：本提案では、血管内皮細胞が産生する細胞膜断片(マイクロパーティクル)がプロスタグランジン(PG)を中心とした脂質メディエーターを産生することで炎症を制御していると仮説立て、その証明と病態治療への応用を目指して研究を遂行した。この結果、()血管内皮細胞は、炎症性サイトカインによる刺激に反応して、直径約50-100 nmの細胞膜断片を産生すること、()この細胞膜断片はプロスタグランジン産生能を有しており、()細胞膜断片を単離細胞やマウスに投与すると炎症が誘起されることを明らかにした。本研究は、血管内皮細胞がもつ、これまでに明らかにされていなかった新しい免疫制御機構の解明に繋がるものである。

研究成果の概要(英文)：We here investigated the pathophysiological role of vascular endothelial cell-derived micro-particle. We found that 1) stimulations by Ca²⁺ ionophore or inflammatory cytokines make endothelial cells to produce microparticle (about 50-100 nm diameter), 2) the endothelial micro-particles produce various types of prostaglandins, and 3) administration of micro-particles modulate inflammatory response both in vitro and vivo. These observations revealed the novel role of vascular endothelial cells in inflammation.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 基礎畜産学・基礎獣医学

キーワード：血管内皮細胞 プロスタグランジン 細胞膜断片 炎症

1. 研究開始当初の背景

細胞膜リン脂質を基質としてシクロオキシゲナーゼ (COX) の活性により産生される 6 種類のプロスタグランジン (PG) は炎症反応の中心的役割を果たす。その産生阻害剤は抗炎症薬として頭痛薬から抗がん剤まで広く応用されており、我々に最も身近な薬の 1 つである。近年の研究により各々の PG のもつ生理作用については徐々に明らかにされてきた。しかし、その産生・伝達機構については未だに明らかにされていない。

2. 研究の目的

申請者は障害を受けた血管内皮細胞が PG 産生に必要なシクロオキシゲナーゼや PG 合成酵素を含んだ細胞膜断片 (マイクロパーティクル) を大量に放出することを発見した。刺激を受けた内皮細胞はマイクロパーティクルを放出して PG を産生し、炎症シグナルを周囲に効率よく伝達している可能性がある。本研究では内皮細胞由来の PG 産生マイクロパーティクルによる新規炎症制御モデルを提案し、その証明と病態治療への応用を目的とした。

3. 研究の方法

血管内皮由来マイクロパーティクル (EC-MP) の PG 産生複合体としての“機能証明”と“治療応用”を目的に以下の項目について検証した。

(1) 単離内皮細胞に炎症刺激を与え、EC-MP が産生されるかどうかを確認した。

(2) 単離された EC-MP 内にプロスタグランジン産生に必要な酵素群が存在するか否かを確認した。

(3) 単離された EC-MP のプロスタグランジン産生量を質量分析装置により測定した。

(4) 単離した EC-MP をマウスの肺に投与することで炎症が引き起こされるかどうかを検証した。

4. 研究成果

本研究で得られた結果を以下に記述する。

(1) ブラジキニンやカルシウムイオノフォアといった細胞内カルシウム上昇を引き起こす刺激や、TNF- α や IL-1 β といった炎症性サイトカインによる刺激が、単離血管内皮細胞から直径 50-100 nm のマイクロパーティクルを産生することを FACS を用いて明らかにした。

(2) 上記刺激により産生された EC-MP を単離し、血管内皮細胞に処置したところ、接着分子である VCAM や ICAM、E-selectin の mRNA 発現量を上昇させた。またこの反応には、転写調節因子である NF- κ B の核内移行が伴って

いた。

(3) 各刺激で産生した EC-MP 内に、シクロオキシゲナーゼやプロスタグランジン合成酵素が存在していることをウェスタンブロットにより確認した。

(4) ブラジキニンやカルシウムイオノフォアによる刺激が、EC-MP からのプロスタグランジン産生量を上昇させることを質量分析装置を用いて明らかにした。

(5) 単離した EC-MP をマウスの肺に投与すると、投与数依存的な炎症が引き起こされることが分かった。

以上の結果から、炎症刺激反応して血管内皮細胞から産生されるマイクロパーティクルはプロスタグランジンを産生することで、炎症を制御する働きを持つことが分かった。

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 15 件)

Kida T, Omori K, Hori M, Ozaki H, Murata T. Stimulation of G protein-coupled bile acid receptor enhances vascular endothelial barrier function via activation of protein kinase A and Rac1.

J Pharmacol Exp Ther. 有り . 2014;348(1):125-30.doi: 10.1124/jpet.113.209288.

Sarashina H, Tsubosaka Y, Omori K, Aritake K, Nakagawa T, Hori M, Hirai H, Nakamura M, Narumiya S, Urade Y, Ozaki H, Murata T.

Opposing immunomodulatory roles of prostaglandin D2 during the progression of skin inflammation.

J Immunol. 有り . 2014;192(1):459-65. doi: 10.4049/jimmunol.1302080.

Lee MY, Skoura A, Park EJ, Landskroner-Eiger S, Jozsef L, Luciano AK, Murata T, Pasula S, Dong Y, Bouaouina M, Calderwood DA, Ferguson SM, De Camilli P, Sessa WC.

Dynamin 2 regulation of integrin endocytosis, but not VEGF signaling, is crucial for developmental angiogenesis.

Development. 有り . 2014;141(7):1465-72. doi: 10.1242/dev.104539.

Kobayashi K, Tsubosaka Y, Hori M, Narumiya S, Ozaki H, Murata T.

Prostaglandin D2-DP signaling promotes endothelial barrier function via the cAMP/PKA/Tiam1/Rac1 pathway.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 有り .
2013;33(3):565-71. doi:
10.1161/ATVBAHA.112.300993.

Iwanaga K, Murata T, Hori M, Ozaki H.
Purinergic P2Y1 receptor signaling mediates
wound stimuli-induced cyclooxygenase-2
expression in intestinal subepithelial
myofibroblasts.
Eur J Pharmacol. 有り . 2013;702(1-3):158-64.
doi: 10.1016/j.ejphar.2013.01.025.

Murata T, Aritake K, Tsubosaka Y, Maruyama
T, Nakagawa T, Hori M, Hirai H, Nakamura
M, Narumiya S, Urade Y, Ozaki H.
Anti-inflammatory role of PGD2 in acute lung
inflammation and therapeutic application of its
signal enhancement.
Proc Natl Acad Sci U S A. 有り .
2013;110(13):5205-10. doi:
10.1073/pnas.1218091110.

Ayabe S, Kida T, Hori M, Ozaki H, Murata T.
Prostaglandin D2 inhibits collagen secretion from
lung fibroblasts by activating the DP receptor.
J Pharmacol Sci. 有り . 2013;121(4):312-7.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23538675

Kida T, Tsubosaka Y, Hori M, Ozaki H, Murata T.
Bile acid receptor TGR5 agonism induces NO
production and reduces monocyte adhesion in
vascular endothelial cells.
Arterioscler Thromb Vasc Biol. 有り .
2013;33(7):1663-9. doi:
10.1161/ATVBAHA.113.301565.

Kida T, Sawada K, Kobayashi K, Hori M,
Ozaki H, Murata T.
Diverse effects of prostaglandin E2 on vascular
contractility.
Heart Vessels. 有り . 2013.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23748433

Nakamura T, Murata T, Hori M, Ozaki H.
UDP induces intestinal epithelial migration via
the P2Y6 receptor.
Br J Pharmacol. 有り . 2013;170(4):883-92. doi:
10.1111/bph.12334.

Di Lorenzo A, Lin MI, Murata T,
Landskroner-Eiger S, Schleicher M, Kothiyi M,
Iwakiri Y, Yu J, Huang PL, Sessa WC.
eNOS-derived nitric oxide regulates endothelial
barrier function through VE-cadherin and Rho
GTPases.
J Cell Sci. 有り . 2013;126(Pt 24):5541-52. doi:
10.1242/jcs.115972.

村田幸久. プロスタグランジン D2 産生制

御による障害組織再生方法の確立. 循環医学
研究年報第 5 集. 無し. 2013; 42-43.

村田幸久, 動脈硬化から組織を守る、内藤
財団時報、無し、2012: 90. 56.

Tajima T, Murata T, Aritake K, Urade Y,
Michishita M, Matsuoka T, Narumiya S, Ozaki H,
Hori M.
EP2 and EP4 receptors on muscularis resident
macrophages mediate LPS-induced intestinal
dysmotility via iNOS upregulation through
cAMP/ERK signals.
Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 有り.
2012 1;302(5):G524-34. doi:
10.1152/ajpgi.00264.2011.

Sakai S, Murata T, Tsubosaka Y, Ushio H, Hori
M, Ozaki H.
 γ -Oryzanol reduces adhesion molecule
expression in vascular endothelial cells via
suppression of nuclear factor- κ B activation.
J Agric Food Chem. 有り . 2012;60(13):3367-72.
doi: 10.1021/jf2043407.

〔学会発表〕(計 36 件)

Kobayashi Koji, Horikami Taiki, Hori
Masatoshi, Ozaki Hiroshi, Murata Takahisa.
TXA2 abrogates acute lung inflammation by
disrupting vascular endothelial barrier. 第 87 回
日本薬理学会. 2014-03-19. 仙台国際センター.

Tsubosaka Yoshiki, Nakamura Tatsuro, Aritake
Kosuke, Urade Yoshihiro, Murata Takahisa.
Macrophage-derived prostaglandin D2
ameliorates adjuvant-induced arthritis.
Angiogenesis 2014. 2014-03-12. Amsterdam.

中村達朗、前田真吾、前原都有子、有竹浩
介、裏出良博、村田幸久 肥満細胞由来の
PGD2 は食物アレルギーを抑制する 第 8 回炎
症・脂質代謝・メタボリサーチフォーラム.
2014-2-22. 東京大学.

Tsubosaka Yoshiki, Hirai Hiroyuki, Nakamura
Masataka, Murata Takahisa. The role of
prostaglandin D2 receptor CRTH2 in
adjuvant-induced arthritis. 第 42 回日本免疫学
会学術集会. 2013-12-11. 幕張メッセ.

Nakamura Tatsuro, Murata Takahisa. Mast
cell-derived prostaglandin D2 suppresses
intestinal mastocytosis in murine model of food
allergy. 第 42 回日本免疫学会学術集会.
2013-12-11 幕張メッセ.

大森啓介, 貴田大樹, 堀正敏, 尾崎博, 村
田幸久. Prostaglandin E2 による血管透過性制
御機構の解明. 循環薬理学会. 2013-12-06. 福
岡大学メデイカルホール

Kobayashi K, Sato K, Kida T, Omori K, Hori M, Ozaki H, Murata T. CXCL12 is a Novel Suppressor of Endothelial Permeability. American Heart Association 2013. 2013-11-16. ダラス・アメリカ.

村田幸久. 炎症性疾患におけるプロスタグランジン D2 の役割 東京脂質談話会. 2013-10-16. 東京大学.

村田幸久. 炎症性疾患におけるプロスタグランジン D2 の役割. 第 156 回東京脂質談話会. 2013-10-16. 東京大学.

Takahisa Murata. Prostaglandin D2 attenuates colitis and colitis-associated colon cancer. 第 72 回日本癌学会 . 2013-10-03 2013-10-05. パシフィコ横浜

Kohei Ashina, Yoshiki Tsubosaka, Keisuke Omori, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki, Takahisa Murata. The mechanism of histamine-induced vascular hyper-permeability. 第 21 回血管生物医学学会 2013-09-28. 千里阪急ホテル.

壺阪義記, 平井博之, 堀正敏, 中村正孝, 尾崎博, 村田幸久. PGD2-CRTH2 シグナルはアジュバント誘発性関節炎を抑制する. 第 156 回日本獣医学会. 2013-09-20. 岐阜大学

芦名功平, 壺阪義記, 大森啓介, 堀正敏, 尾崎博, 村田幸久. ヒスタミンによる血管透過性制御機構の解明. 第 156 回日本獣医学会. 2013-09-20. 岐阜大学.

前原都有子, 村田幸久, 堀正敏, 尾崎博. 5-HT3R 阻害剤は腹腔内マクロファージに作用し術後イレウスの炎症を軽減する. 第 156 回日本獣医学会. 2013-09-20. 岐阜大学.

猪村優貴, 村田幸久, 堀正敏, 尾崎博. 術後イレウスにおける $\alpha 7nACh$ 受容体を介したマクロファージ選択的抗炎症作用. 第 156 回日本獣医学会. 2013-09-20. 岐阜大学

Hana Sarashina, Yoshiki Tsubosaka, Kosuke Aritake, Takayuki Nakagawa, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki, Yoshihiro Urade, Takahisa Murata. Prostaglandin D2 Represents Contradicting Roles in Dermatitis. International Conference of Immunology. 2013-08-24. Milan Italia.

Yoshiki Tsubosaka, Hiroyuki Hirai, Masatoshi Hori, Masataka Nakamura, Hiroshi Ozaki, Takahisa Murata. Deficiency of prostaglandin D2 receptor CRTH2 deteriorates adjuvant-induced arthritis. International Conference of Immunology. 2013-08-24. Milan Italia.

Tatsuro Nakamura, Shigeko Matsumoto, Kosuke Aritake, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki, Yoshihiro Urade, Takahisa Murata. Mast cell-derived prostaglandin D2 suppresses intestinal mastocytosis in food allergy. International Conference of Immunology. 2013-08-24. Milan Italia.

Keisuke Omori, Taiki Kida, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki, Takahisa Murata. Opposing role of PGE2-EPs signalings on vascular permeability. 第 13 回東京大学生命科学シンポジウム. 2013-06-08. 東京大学

Kohei Ashina, Yoshiki Tsubosaka, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki, and Takahisa Murata. The mechanism of Histamine-induced vascular hyper-permeability. 第 13 回東京大学生命科学シンポジウム. 2013-06-08. 東京大学.

②Yoshiki Tsubosaka, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki, and Takahisa Murata. The role of prostaglandin D2 receptor CRTH2 in adjuvant-induced arthritis. 第 13 回東京大学生命科学シンポジウム. 2013-06-08. 東京大学.

②澤田慧, 貴田大樹, 小林幸司, 村田幸久, 堀正敏, 尾崎博. プロスタグランジン E2 による血管収縮の増強と抑制. 第 155 回日本獣医学会. 2013-03-29. 東京大学.

③Koichi Iwanaga, Takahisa Murata, Masatoshi Hori, Kosuke Aritake, Yoshihiro Urade, Hiroshi Ozaki. Mast cell-derived prostaglandin D2 inhibits colitis-associated carcinogenesis through suppressing TNF- α signaling. 第 86 回日本薬理学会. 2013-03-23. 福岡国際会議場.

④Toko Maehara, Tatsuro Nakamura, Takahisa Murata, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki. Ameliorative action of 5-HT3 receptor antagonist, ondansetron, for post-operative ileus. 第 86 回日本薬理学会. 2013-03-23. 福岡国際会議場.

⑤ Keisuke Omori, Taiki Kida, Takahisa Murata, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki. Role of PGE2 in regulating vascular permeability. 第 86 回日本薬理学会. 2013-03-22. 福岡国際会議場.

⑥ Nakamura Tatsuro, Murata Takahisa, Matsumoto Shigeko, Aritake Kosuke, Masatoshi Hori, Yoshihiro Urade, Hiroshi Ozaki. Mast cell derived prostaglandin D2 suppresses intestinal allergic inflammation. 第 86 回日本薬理学会. 2013-03-21. 福岡国際会議場.

⑦Taiki Kida, Takahisa Murata, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki. Bile Acid Receptor TGR5

Agonism Enhances Vascular Endothelial Barrier Function. 第 86 回日本薬理学会. 2013-03-21. 福岡国際会議場.

⑳村田幸久. 睡眠誘発物質は癌の増殖を抑制する. 第 5 回レドックス・ライフイノベーション 2013-03-08. 味の素川崎工場.

㉑Kanakano Sato, Koji Kobayashi, Taiki Kida, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki, Takahisa Murata. SDF-1 α Promotes Endothelial Cell Barrier Integrity via CXCR4 stimulation. Gordon Research Conferences. 2013-01-25. Four Points Sheraton, Ventura CA, USA.

㉒Koji Kobayashi, Kanako Sato, Taiki Kida, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki, Takahisa Murata. Stromal cell derived factor-1 α -CXCR4 axis promotes endothelial cell barrier integrity via PI3K and Rac1 activation. 第 20 回日本血管生物医学会. 2012-12-7. 徳島あわぎんホール.

㉓Keisuke Omori, Taiki Kida, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki, Takahisa Murata. Role of PGE2 in regulating vascular permeability. 第 20 回日本血管生物医学会. 2012-12-7 徳島あわぎんホール.

㉔小林幸二, 佐藤可奈子, 貴田大樹, 村田幸久, 堀正敏, 尾崎博. SDF-1 α は CXCR4/PI3K/Rac1 経路を介して内皮細胞の透過性を抑制する. 第 22 回 日本循環薬理学会. 2012-11-30. 富山国際会議場.

㉕貴田大樹, 壺阪義記, 村田幸久, 堀正敏, 尾崎博. 胆汁酸受容体 TGR5 の刺激は血管内皮細胞の NO 産生量を増加し、単球の接着を抑制する. 第 154 回日本獣医学会. 2012-09-15. 岩手大学.

㉖大森啓介, 貴田大樹, 村田幸久, 堀正敏, 尾崎博. ProstaglandinE2 による血管透過性制御機構の解明. 第 154 回日本獣医学会. 2012-09-15. 岩手大学.

㉗Koji Kobayashi, Yoshiki Tsubosaka, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki, Takahisa Murata. Prostaglandin D2-DP signal promotes endothelial barrier function via cAMP/PKA/Rac1 pathway. Internatioanl Vascular Biology Meeting. 2012-06-04. Germany Weisbaden.

㉘Taiki Kida, Yoshiki Tsubosaka, Masatoshi Hori, Hiroshi Ozaki, and Takahisa Murata. Bile Acid Receptor TGR5 Agonism Represents Anti-inflammatory Effects via Stimulating Nitric Oxide Production in Vascular Endothelial Cells. 2012 ATVB. 2012-04-20. Chicago.

{ 図書 } (計 0 件)

{ 産業財産権 }
○出願状況 (計 1 件)

名称 : アレルギー抑制剤
発明者 : 村田幸久、中村達朗
権利者 : 東京大学
種類 : 米国仮出願
番号 : 61/772689
出願年月日 : 2013 年 3 月 5 日
国内外の別 : アメリカ合衆国

○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
<http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/houshasen/>

6 . 研究組織
(1)研究代表者
村田 幸久 (MURATA, Takahisa)
東京大学・農学生命科学研究科・准教授
研究者番号 : 40422365

(2)研究分担者
()

研究者番号 :

(3)連携研究者
()

研究者番号 :