

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：メカノバイオロジー機構の解明による革新的医療機器及び医療技術の創出
2. 研究開発課題名：血管新生におけるメカノトランスダクション機構の解明
3. 研究開発代表者：福原茂朋（国立循環器病研究センター）
4. 研究開発の成果

血管新生は、既存の血管から血管枝が出芽し新たな血管網を構築するプロセスである。血管新生には、生体恒常性維持に関わる生理的な血管新生と疾患の発症・進展に関わる病的な血管新生がある。本研究開発では、血管新生におけるメカノトランスダクション機構を解明することで、血管新生が関わる疾患の治療法の開発及び効果的な血管再生療法の開発のための分子基盤の構築を目指す。本研究開発目標を達成するため、“細胞接着装置によるメカノトランスダクションが血管新生過程の内皮細胞の極性形成と運動を制御する分子機序の解明”及び“内皮細胞に作用するシェアストレス及び静水圧が血管新生を制御する機構の解明”の二つの研究開発項目を実施する。以下に平成 27 年度の研究開発成果を示す。

研究開発項目 1：細胞接着装置によるメカノトランスダクションが血管新生過程の内皮細胞の極性形成と運動を制御する分子機序の解明

血管新生における内皮細胞にかかる力を可視化するため、内皮細胞の張力負荷されたアクチン繊維を可視化できるゼブラフィッシュの開発を試みた。ミオシン軽鎖 12 と GFP の融合タンパク質 (My112.1-GFP) を発現するプラスミドを作製し、培養血管内皮細胞を用いた *in vitro* 解析により、My112.1-GFP が張力負荷されたアクチン繊維の可視化に有用であることを確認した。そこで、内皮特異的 *fli1a* プロモーター制御下で My112.1-GFP を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュ (*Tg(fli1a:myl12.1-GFP)*) を樹立し、生体内における内皮細胞の張力負荷されたアクチン繊維の可視化に成功した。現在、血管新生過程の内皮細胞にかかる力のライブイメージング解析を始めている。

また、内皮細胞における細胞間及び細胞-基質間接着部位にかかる張力を可視化できるゼブラフィッシュ、さらには光刺激依存的に細胞接着装置にかかる張力を操作できる分子の開発を進めている。

研究開発項目 2：内皮細胞に作用するシェアストレス及び静水圧が血管新生を制御する機構の解明

私たちはこれまでに、成魚皮膚の創傷治癒過程における血管新生において、切断された血管が修復する際、血流に対して上流の血管は伸長せず、下流の血管が選択的に伸長することを発見した。血流に対して上流の血管では内腔圧が高く、下流の血管では低いと考えられることから、“内皮細胞に作用する静水圧が血管新生を制御する”と考いう仮説をたて、その検証を行った。その結果、切断された下流血管では、内皮細胞が活発に遊走・増殖することで血管を伸長させていること、また、この現象は創傷治癒に伴う血管新生に限定されたものではなく、他の血管の血管新生でも保存された現象であることがわかった。また、内皮細胞における静水圧が血管新生を負に制御しているか知るため、微小流体デバイスを用いた *in vitro* の血管新生解析を行った結果、血管の内腔圧の上昇は、血管新生における血管伸長を抑制する可能性が示唆された。さらに、内皮細胞に静水圧を感知するシステムが備わっているか知るため、*in vitro* の内皮細胞に静水圧を負荷したところ、メカノトランスダクションに関わる核転写調節因子 YAP の核外移行が誘導された。

以上の結果から、内皮細胞には静水圧を感知するシステムが備わっていること、また、切断された上流血管では、内腔圧の上昇により内皮細胞の遊走・増殖活性が抑えられ、その結果として血管の伸長が阻害される可能性が示唆された。