



研究課題名 血管細胞における力学応答の分子バイオメカニクス

獨協医科大学・医学部・特任教授 あんどう じょうじ  
安藤 譲二

研究分野：総合領域、人間医工学、医用生体工学・生体材料学

キーワード：バイオメカニクス、メカノトランスダクション、血行力学因子、血管生物学

【研究の背景・目的】

細胞や組織が力学的環境に由来するメカニカルストレスを感知して反応することは、その機能や生存にとって極めて重要な役割を果たしている。しかし、そうした力学応答の仕組みはまだ十分解明されていない。本プロジェクトでは血管内面を覆い、血流と接触する内皮細胞の力学応答に焦点を当て、内皮細胞が血流に起因する流れ剪断応力（shear stress）を感知して情報伝達する分子機構を解明する。とくに我々が同定した shear stress のカルシウム・シグナリングに関わるイオンチャネル P2X4 の活性化機構を中心に、ナノスケールの生体分子レベルで解析するバイオメカニクス研究を展開する。また、我々が作製した P2X4 の遺伝子欠損マウスにより内皮細胞の力学応答が個体レベルの循環調節に果たしている役割を検討することで、神経系や内分泌系を介した生体機能の制御とは異なるメカニカルストレスによる制御様式を明らかにする。

【研究の方法】

以下の3つの項目について検討する。

**I. Shear stress 作用下の細胞膜分子の挙動：**培養血管内皮細胞に定量的な shear stress 作用させたときの、1) 細胞膜の流動性、2) 膜リン脂質の相転移、3) 膜マイクロドメイン（ラフト、カベオラ）の変化、4) インテグリンと細胞骨格の挙動、5) 細胞増殖因子受容体のリガンド非依存性のリン酸化、について各種蛍光プローブと顕微鏡システム（共焦点レーザー顕微鏡、2光子レーザー走査蛍光顕微鏡、全反射蛍光顕微鏡）を用いた分子イメージングで解析する。

**II. Shear stress のメカノセンシング機構：**shear stress のトランスデューサーとして働く P2X4 の活性化の仕組みと、それに関わる ATP 放出反応を解析する。P2X4 の電気生理学的性質や膜内トポロジーの解析とともに shear stress の応答に関わる特定サイトの同定を行う。ATP 放出については細胞膜カベオラに存在する Fo-F1ATP 合成酵素の役割を明らかにするとともに、遺伝子工学的に作製したストレプトアビジン・ルシフェラーゼ融合蛋白質と冷却型 CCD カメラを用いた細胞レベルでの局所的 ATP 分泌現象のリアルタイム・イメージングを行う。

**III. Shear stress の情報伝達と循環調節：**Shear stress センシングの下流で活性化する情報伝達経路と遺伝子応答のカスケードを明らかにする。shear stress が循環調節に果たす役割については P2X4 遺伝子の欠損マウスを用いた組織・個体レベルでの解析を行う。また、胚の器官形成に果たす shear stress の役割については ES 細胞の分化誘導の面から検討を加える。

【期待される成果と意義】

Shear stress による P2X4 の活性化の分子機構が明らかになると血管細胞の力学応答の仕組みが解明される。また、P2X4 の遺伝子欠損マウスを使うことで血流刺激が循環調節に果たす役割を検証できる。本プロジェクトの成果は血流の増加を伴う運動が生体に及ぼす有益効果のメカニズムや血流依存性に発生する粥状動脈硬化、高血圧、血栓症といった血管病の病態の解明にも大きく寄与すると思われる。また、shear stress のセンシングを人工的に修飾できる手段が見つかるると新しい血管病の予防・治療法の開発に貢献できる。さらに、本研究によりメカノセンシングの分子バイオメカニクス研究が進展すると血管に留まらず力学的環境に絶えず曝される多くの細胞・組織の形態や機能の制御機構の解明にもつながり、遺伝情報と力学場を含む環境要因との相互作用から成り立つ生命現象の包括的理解にも役立つ意義がある。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- K. Yamamoto, T. Sokabe, A. Kamiya, and J. Ando: Impaired flow-dependent control of vascular tone and remodeling in P2X4-deficient mice. Nat. Med. 12:133-137, 2006
- 安藤譲二、神谷瞭編著：循環系のバイオメカニクス、ME 教科書シリーズ、日本生体医工学学会（コロナ社）2005年

【研究期間と研究経費】

平成21年度－25年度

156,400千円

ホームページ等

<http://square.umin.ac.jp/vascbiol/>