

Banyu Foundation Research Grant 2012—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	大阪大学微生物病研究所
氏 名	内藤 尚道
研究テーマ	末梢血管幹細胞システムを用いた虚血性疾患に対する新規治療法の開発

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

「研究目的」

成体における血管新生時に新生血管内皮細胞の供給源として血管内皮幹・前駆細胞を同定し解析を行ってきた。本研究ではその血管内皮幹・前駆細胞のさらなる解析を行い、さらには細胞培養により増幅させる将来的に臨床治療に応用することができるような技術の確立を目的とし研究を行った。

「研究手法」

マウス成体で組織常在型の血管内皮幹・前駆細胞をフローサイトメトリー解析にて血管内皮 SP (side population) 細胞を同定し解析を行ってきた。①その内皮 SP 細胞を in vitro で増幅する方法の開発のため、内皮 SP 細胞が如何に発生してくるか解析を行った。また、②発生してくるメカニズムの解明をモデルとして ES/iPS 細胞から内皮 SP 細胞様の細胞の作製を試みた。

「研究成果」

①「内皮 SP 細胞の発生様式の解析」

血管内皮幹・前駆細胞の発生様式を解析すると、血管内皮 SP 細胞は胎生期および出生後数日間の間 SP 細胞は存在せず、すべて MP (main population) 細胞であることがわかった。SP 細胞は成長に伴って徐々に増加することが明らかとなった。出生後すぐの GFP マウス由来の MP 細胞を野生型マウスに移植しマウスを成長させると、GFP 陽性の SP 細胞が出現することが明らかとなり、成体の SP 細胞は胎児期の MP 細胞から生じることがわかった。胎児期 MP 細胞がどのような条件下で SP 細胞になるか解析するため、血管内皮細胞と接する細胞の障害を行い SP 細胞の発生がどのように変化するか解析したが、これらの細胞が関与している結果は得られなかった。

②「ES/iPS 細胞から内皮 SP 細胞の作製」と「新規内皮 SP 細胞マーカーの同定」

また ES/iPS 細胞から内皮細胞を誘導し SP 細胞の解析を行い、さらには ES 由来の内皮細胞を S 細胞が生じてくる環境である胎児環境に移植し SP 細胞の存在を確認したが、SP 細胞は誘導できなかった。そこで、内皮幹・前駆細胞の特徴をより詳細に検討するため、SP 細胞、MP 細胞でマイクロアレイ解析を行い新規表面マーカー2 分子同定した。それらのマーカーを用いると内皮細胞分画中に、現在まで知られていなかった新規内皮細胞分画を同定することができ、それらは内皮 SP 細胞と非常に似た性質を持つことが明らかになった。このマーカーを用いて血管内皮幹・前駆細胞の場所、さらにはこの分子のプロモーター-GFP マウスを作製し血管新生の詳細なメカニズムを解析している。血管内皮幹細胞システムの存在を示唆する知見が得られている。現在 SP 細胞を誘導するのではなく、これらの分子が発現している内皮細胞を ES/iPS 細胞から誘導し内皮細胞移植に使用できる内皮細胞を in vitro で産生できるよう研究を進めている。

Banyu Foundation Research Grant 2012—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <発表実績/予定一覧>

所	属	大阪大学微生物病研究所
氏	名	内藤 尚道

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。 国内外雑誌を問わない。 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。
1	Hisamichi Naito, Nobuyuki Takakura Vascular-Resident Endothelial Side Population Cells Angiogenesis and Vascularisation , Springer 2013, 67-84 査読:なし
2	Wakabayashi T, <u>Naito H</u> , Takara K, Kidoya H, Sakimoto S, Oshima Y, Nishida K, Takakura N. Identification of vascular endothelial side population cells in the choroidal vessels and their potential role in age-related macular degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci . 2013 Oct 11;54(10):6686-93. 査読:有
3	Kawahara H, <u>Naito H</u> , Takara K, Wakabayashi T, Kidoya H, Takakura N. Tumor endothelial cell-specific drug delivery system using apelin-conjugated liposomes. PLoS One . 2013 Jun 14;8(6):e65499. 査読:有
4	Satoh T, Kidoya H, <u>Naito H</u> , Yamamoto M, Takemura N, Nakagawa K, Yoshioka Y, Morii E, Takakura N, Takeuchi O, Akira S. Critical role of Trib1 in differentiation of tissue-resident M2-like macrophages. Nature . 2013 Mar 28;495(7442):524-8. 査読:有
5	Sakimoto S, Kidoya H, Kamei M, <u>Naito H</u> , Yamakawa D, Sakaguchi H, Wakabayashi T, Nishida K, Takakura N. An angiogenic role for adrenomedullin in choroidal neovascularization. PLoS One . 2013;8(3):e58096. 査読:有
6	Yamakawa D, Kidoya H, Sakimoto S, Jia W, <u>Naito H</u> , Takakura N. Ligand-independent Tie2 dimers mediate kinase activity stimulated by high dose angiopoietin-1. J Biol Chem . 2013 May 3;288(18):12469-77. 査読:有
7	Jia W, Kidoya H, Yamakawa D, <u>Naito H</u> , Takakura N. Galectin-3 accelerates M2 macrophage infiltration and angiogenesis in tumors. Am J Pathol . 2013 May;182(5):1821-31. 査読:有

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2014年7月	Gordon Research Conferences Endothelial Cell Phenotypes in Health & Disease <u>Hisamichi Naito</u> , Taku Wakabayashi, Nobuyuki Takakura Identification of a new endothelial cell population in the peripheral blood vessels.
2	2014年4月	The 18th International vascular biology meeting <u>Hisamichi Naito</u> , Taku Wakabayashi, Kazuhiro Takara et al. Identification of a new population of vascular resident endothelial cells
3	2013年9月	第21回 日本血管生物医学会学術集会 招待講演 <u>内藤尚道</u> 、若林卓、木戸屋浩康、高倉伸幸 既存血管の内皮幹細胞と病態
4	2013年8月	11th Japan-Korea Joint Symposium on vascular biology 招待講演 <u>Hisamichi Naito</u> , Nobuyuki Takakura Identification of Vascular Endothelial Side Population Cells and Its Role in Angiogenesis
5	2013年5月	第8回 Aso International Meeting (AIM) <u>Hisamichi Naito</u> Vascular resident endothelial side population cells serves as endothelial supplying cells in the lung tumor
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2014年秋頃 投稿予定	「肝臓における血管内皮 SP 細胞の解析」 投稿先未定
2	2014年秋頃 投稿予定	Cancer Research 投稿予定 <u>Hisamichi Naito</u> , Hiroyasu Kidoya, Taku Wakabayashi, Nobuyuki Takakura Vascular resident endothelial side population cells in the lung act as endothelial supplying cell in lung tumor and may contribute to drug resistance.
3		
4		