

研究助成 2019 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	名古屋大学医学部附属病院 循環器内科
氏 名	加藤 勝洋
研究テーマ	間葉系幹細胞による血管新生ダイナミクスの解析

- 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、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。
（図表、写真などの貼付を含む）

研究目的

ライフスタイルの欧米化に伴って、日本においても様々な生活習慣病やメタボリックシンドロームを有する人が増加し、結果として虚血性心血管疾患は増加の一途をたどっている。治療として理学療法や薬物療法、血行再建術が施行されており、治療薬の開発や医療器材の進歩に伴い、このような治療による改善効果にも進展がみられている。一部の治療が奏功しない症例に対する治療法の1つとして間葉系幹細胞を用いた血管新生療法があげられる。治療が奏功する症例も散見されるが、糖尿病や血液維持透析など特定の危険因子を有する症例への治療効果が劣っていることが明らかとなってきた。しかしながら、糖尿病など病態下において血管が形成される過程が障害されているのか、移植した間葉系細胞が血管細胞に対して実際にどのように働いて血管形成が促進されているのか、明確な解答は得られていない。そこで本研究では血管内皮細胞の核で GFP が発現し、細胞膜で tdtomato が発現することで、内皮細胞のダイナミクスを一細胞レベルで観察することができるマウスを利用し、生体内で血管が新生する過程を観察することを可能とする実験系を確立することを目指した。さらに確立した実験系のマウスに間葉系幹細胞を移植することで、移植細胞の局在および動態の解析を行うことを目指した。

研究手法

多光子共焦点レーザー顕微鏡(ニコン社製 A1R MP)を用いて、血管内皮細胞の核が GFP でラベルされ細胞膜が tdtomato でラベルされるマウス (Cdh5-tomato-H2B-GFP マウス) の下肢の足背、鼠径部、マウス背部皮膚、耳介の毛細血管の観察を行なった。呼吸に伴う体動の影響により画像取得が困難な部位に関しては、オリンパス社製の局所固定観察器具を用いた。血管新生を誘導するモデルとして、片側下肢虚血モデル、皮膚欠損創傷治癒モデルおよび皮膚凍傷治癒モデルを用いて観察を行なった。移植する間葉系幹細胞は、mTmG レポーターマウス、Cdh5-tomato-H2B-GFP マウス、間葉系幹細胞に対する CreERT2 マウスと mTmG レポーターマウスと組み合わせたマウス、それぞれの鼠径部皮下脂肪より抽出した間質血管細胞群を使用した。

研究成果

多光子共焦点レーザー顕微鏡と Cdh5-tomato-H2B-GFP マウスを組み合わせることで、下肢の足背、鼠径部、マウス背部皮膚、耳介の毛細血管網を生体内で可視化することができた。次に片側下肢虚血モデルを作製し、培養過程を経ず全種類の細胞、間葉系幹細胞または血管内皮細胞がラベルされた間質血管細胞群を虚血肢に移植したところ、予想に反して移植した血管内皮細胞が伸長し、レシピエントの血管網と吻合することが観察された。片側下肢虚血モデル作製後に足背や鼠径部毛細血管の経時的な観察、皮膚欠損創傷治癒モデル、皮膚凍傷治癒モデル、皮膚耳介欠損モデルを用いての経時的な観察を行うことで、血管が形成される過程の観察を進めている。

研究助成 2019 – 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	名古屋大学医学部附属病院 循環器内科
氏	名	加藤 勝洋

1. 論文発表実績

- 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	Mori Y, Tsuchihira A, Yoshida T, Yoshida S, Fujiuchi A, Ohmi M, Isogai Y, Sakaguchi T, Eguchi S, Tsuda T, <u>Kato K</u> , Ohashi K, Ouchi N, Park HM, Murohara T, Takefuji M. Corticotropin releasing hormone receptor 2 antagonist, RQ-00490721, for the prevention of pressure overload-induced cardiac dysfunction. Biomed Pharmacother. 146:112566. 2022 査読有
2	Laban H, Siegmund S, Zappe M, Trogisch FA, Heineke J, Torre C, Fisslthaler B, Arnold C, Lauryn J, Büttner M, Mogler C, <u>Kato K</u> , Adams RH, Kuk H, Fischer A, Hecker M, Kuebler WM, Korff T. NFAT5/TonEBP Limits Pulmonary Vascular Resistance in the Hypoxic Lung by Controlling Mitochondrial Reactive Oxygen Species Generation in Arterial Smooth Muscle Cells. Cells. 10(12):3293. 2021 査読有
3	Ishihama S, Yoshida S, Yoshida T, Mori Y, Ouchi N, Eguchi S, Sakaguchi T, Tsuda T, <u>Kato K</u> , Shimizu Y, Ohashi K, Okumura T, Bando YK, Yagyu H, Wettschureck N, Kubota N, Offermanns S, Kadowaki T, Murohara T, Takefuji M. LPL/AQP7/GPD2 promotes glycerol metabolism under hypoxia and prevents cardiac dysfunction during ischemia. FASEB J. 35(12):e22048. 2021 査読有
4	Ito F, <u>Kato K</u> , Yanatori I, Murohara T, Toyokuni S. Ferroptosis-dependent extracellular vesicles from macrophage contribute to asbestos-induced mesothelial carcinogenesis through loading ferritin.Redox Biol. 47:102174. 2021 査読有
5	Kato T, <u>Kato K</u> , Shimizu Y, Takefuji M, Murohara T. Treatment with adipose-derived regenerative cells enhances ischemia-induced angiogenesis via exosomal microRNA delivery in mice. Nagoya J Med Sci. 83(3):465-476. 2021 査読有
6	Tsuzuki K, Shimizu Y, Suzuki J, Pu Z, Yamaguchi S, Fujikawa Y, <u>Kato K</u> , Ohashi K, Takefuji M, Bando YK, Ouchi N, Calvert JW, Shibata R, Murohara T. Adverse Effect of Circadian Rhythm Disorder on Reparative Angiogenesis in Hind Limb Ischemia. J Am Heart Assoc. 10(16):e020896. 2021 査読有

7	Fang L, Ohashi K, Otaka N, Ogawa H, Hiramatsu-Ito M, Kawanishi H, Bando YK, Shibata R, Shimizu Y, <u>Kato K</u> , Takikawa T, Ozaki Y, Takefuji M, Murohara T, Ouchi N. Omentin attenuates angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm formation in apolipoprotein-E knockout mice. <i>Cardiovasc Res.</i> cvab179. 2021 査読有
8	Hara A, <u>Kato K</u> , Ishihara T, Kobayashi H, Asai N, Mii S, Shiraki Y, Miyai Y, Ando R, Mizutani Y, Iida T, Takefuji M, Murohara T, Takahashi M, Enomoto A. Meflin defines mesenchymal stem cells and/or their early progenitors with multilineage differentiation capacity. <i>Genes Cells.</i> 26(7):495-512. 2021 査読有
9	Yamaguchi K, Yisireyili M, Goto S, <u>Kato K</u> , Cheng XW, Nakayama T, Matsushita T, Niwa T, Murohara T, Takeshita K. Indoxyl Sulfate-induced Vascular Calcification is mediated through Altered Notch Signaling Pathway in Vascular Smooth Muscle Cells. <i>Int J Med Sci.</i> 17(17):2703-2717. 2020 査読有
10	Jiang H, Zhang L, Liu X, Sun W, <u>Kato K</u> , Chen C, Li X, Li T, Sun Z, Han W, Zhang F, Xiao Q, Yang Z, Hu J, Qin Z, Adams RH, Gao X, He Y. Angiocrine FSTL1 (Follistatin-Like Protein 1) Insufficiency Leads to Atrial and Venous Wall Fibrosis via SMAD3 Activation. <i>Arterioscler Thromb Vasc Biol.</i> 40(4):958-972. 2020 査読有
11	Sivaraj KK, Dharmalingam B, Mohanakrishnan V, Jeong HW, <u>Kato K</u> , Schröder S, Adams S, Koh GY, Adams RH. YAP1 and TAZ negatively control bone angiogenesis by limiting hypoxia-inducible factor signaling in endothelial cells. <i>Elife.</i> 9. pii: e50770. 2020 査読有

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	2021年3月	第85回日本循環器学会学術集会 Katsuhiko Kato and Toyooki Murohara. Physiology and Pathology of Pulmonary Vasculature.
2	2021年3月	第28回日本血管生物医学会学術集会 Katsuhiko Kato and Toyooki Murohara. Organotypic development of pulmonary vasculature.
3	2020年12月	第43回日本分子生物学会年会 Katsuhiko Kato and Toyooki Murohara. Organotypic function of pulmonary pericytes.
4	2020年11月	第6回血管生物医学会若手研究会 加藤勝洋 臓器特異的な血管網と血管形成
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		