

血管新生におけるメカノバイオロジ機構の解明

西山功一

熊本大学国際先端医学研究機構

【研究の背景】

血管新生は、生体組織の構築や維持に必須の血管増生反応であり、虚血性心疾患をはじめ様々な病態に関与する。血管新生において、内皮細胞と壁細胞が様々な分子支配の下に複雑な細胞間相互作用を行い、自発的に血管の形態を形成する。さらに、この形態形成現象が血流や周囲組織から修飾を受けて、組織特異的な秩序立った管腔ネットワークが形成される。しかし、血流によって生じるずり応力や内腔圧といった物理的力が血管新生にどのように影響しているのか不明である。また、それを十分検討しうる解析系も現状ではほとんどない。最近、申請者は横川ら(京大工)と協働して、微小流体デバイス上に血管新生を再現し、新生過程の血管内に送液することに成功した(Nashimoto et al., Integr Biol 2017)。

【目 的】

本研究では、イメージング定量解析、微小流体デバイスを用いた構成的実験を統合した解析系を構築する。それにより、血管新生におけるメカノバイオロジ機構、特に血流に伴う血管内腔圧が血管新生の制御にいかに関わっているか、そして、その制御メカニズムを明らかにすることで、血管新生を自在に操るための基盤づくりに貢献することを目的とした。具体的には、以下の解明を目指した。

- 1) 血管内腔圧が血管伸長を抑制する分子・細胞メカニズム
- 2) 血管内腔圧負荷を回避し血管新生を進めるメカニズム

【方 法】

- 1) 血管内腔圧が血管伸長を抑制する分子・細胞メカニズム

既報のデザイン(Kim S et al., Lab Chip 2013)をベースとした微小流体デバイス上でヒト肺線維芽細胞と共培養することで、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVECs)による血管新生を誘導した。誘導した新生血管の内腔側から静水圧を負荷し、その際の血管新生動態のタイムラプス観察および形態変化の定量化を行った。また、静水圧負荷急性期の細胞骨格変化とメカトランスダクション分子の一つとして知られる YAP/TAZ の発現変化を組織学的に解析した。

- 2) 血管内腔圧負荷を回避し血管新生を進めるメカニズム

微小流体デバイス上で、HUVECs とヒト胎盤由来ペリサイトを混合した細胞により血管新生を誘導し、静水圧負荷下における血管新生動態を同様に観察した。また、マウス網膜血管新生モデルにおいて、血管内腔形成パターンの変化を、抗 PDGFR β 受容体抗体全身投与によるペリサイト被覆阻害の有無により比較検討した。

【結 果】

- 1) 血管内腔圧が血管伸長を抑制する分子・細胞メカニズム

静水圧負荷後、かなり早い時期に血管の伸長が停止し、その後先端細胞の極性が消失、最終的には血管構造の退縮に至る一連のプロセスが示された。また、圧を解除することで、一度伸長が止まった新生血管の先端細胞が再度極性化し、血管が再伸長した。すなわち、静水圧負荷による血管伸長停止は、アーチファクトでなく、静水圧上昇による新生血管の生理的な反応であることが示唆された。また、粒子画像流速計測法(PIV)により静水圧負荷直後の血管形態変化を解析

した結果、静水圧負荷に伴い血管円周方向と長軸方向同時に伸展張力が生じている可能性が示唆された。さらに、静水圧負荷による血管の拡張に伴い、伸長する新生血管に特徴的にみられる F-アクチンの血管長軸方向に沿った集積が消失していた。静水圧負荷早期の新生血管における YAP/TAZ の局在変化は認めなかった。

2) 血管内腔圧負荷を回避し血管新生を進めるメカニズム

微小流体デバイスを用いた実験系において、ペリサイトが被覆する状態で静水圧負荷をかけると、特に静水圧負荷による血管の退縮効果が抑制され、ペリサイトは内腔圧による血管新生抑制作用を回避する一つの因子であることを同定した。また、マウス網膜血管新生において、ペリサイトの被覆していない新生血管における内腔形成パターンを免疫染色で検討したが、その形成パターンはペリサイトが被覆した正常の新生血管とほぼ同様であった。すなわち、ペリサイトは内腔形成自体には大きな影響を与えていないことがわかった。

【考 察】

以上の結果から、血管内腔圧は血管新生を抑制する新たな制御因子であることが示された。その抑制メカニズムとして、血管内腔圧に伴う血管拡張が伸展張力を生じ、その張力により血管伸長に必要な F-アクチンの形成ができないことで血管が伸長できないと想定された。伸展張力をどのように感知して、血管新生に特徴的な F-アクチンの形成阻害に至るのかというメカノセンシング機構は今後の課題として残った。また、ペリサイトは、新生血管に生じる内腔圧負荷に対して、抵抗的に働くことで、血管伸長の on/off を巧妙に調節するという、ペリサイトの新たな血管新生制御システムの可能性が強く示唆された。今後、内皮細胞による血管内腔圧メカノセンシング機構の解明とともに、ペリサイトが血管内腔圧による血管新生抑制作用を回避する分子メカニズムも併せて検討していく予定である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

血管新生は、虚血性疾患に限らず癌の進展、糖尿病性網膜症などの炎症性疾患と様々な病態に関与する。また、再生医療に向けた人工組織・器官の構築には、血管配置は欠かせない。血管新生を標的とした現行治療には限界があり、血管新生メカニズムを先例のない角度から包括的に解明する本研究は、次世代の画期的治療法開発に向けた視点や基盤を与え、臨床の場へ大きく貢献する。

【参考・引用文献】

Nashimoto Y, Hayashi T, Kunita I, Nakamasu A, Torisawa YS, Nakayama M, Takigawa-Imamura H, Kotera H, Nishiyama K, Miura T, Yokokawa R. Integrating perfusable vascular networks with a three-dimensional tissue in a microfluidic device. *Integr Biol.* 2017;9(6):506-518.

Kim S, Lee H, Chung M, Jeon NL. Engineering of functional, perfusable 3D microvascular networks on a chip. *Lab Chip.* 2013;13(8):1489-500.