

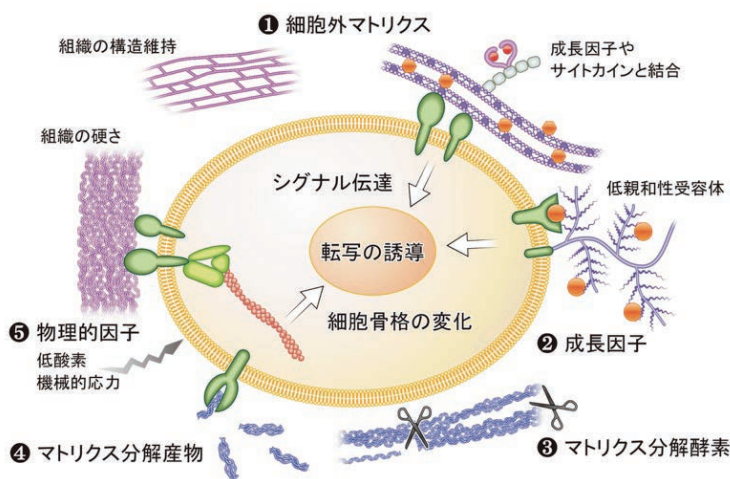
循環ダイナミクス

「細胞外環境応答から生物の生存戦略を探る」

細胞外環境の構成要素には、コラーゲンやエラスチンなどの細胞外マトリクスとよばれる高分子複合体、成長因子、マトリクス分解酵素、マトリクス分解産物、低酸素やpH、機械応力などの化学的・物理的因子がある。それらの因子が細胞と適切な相互作用を保つことで、細胞は正常に発生し維持される。私たちは、生物の生存戦略を細胞外環境と細胞との相互作用から捉え、細胞外からのシグナルが、どのようにして細胞の機能を調節し、あるいは転写を誘導するか、血管細胞や組織幹細胞に着目して研究を行なっている。また、この相互作用の破綻がどのように疾患に至るかを研究している。

Cells in our body constantly receive cues from extracellular environments and respond by changing cytoskeletal organization and cellular functions as well as initiating transcriptional program, thereby maintaining homeostasis. To understand the interactions between cells and extracellular microenvironments is a key to unravel survival strategies of living organisms. Our laboratory aims to molecularly dissect cellular responses to alterations of extracellular environments and to find a potential link to dysfunction of tissues, focusing on blood vessel cells and tissue stem cells.

細胞と細胞外環境の相互作用



2018年度 柳沢研究室集合写真

プロジェクトメンバー

教授

柳沢裕美

助教

佐田亜衣子

山城義人

HBP 学位プログラム

杉山夏緒里

Lalhaha Oinam

Karina Ramirez

Yen Xuan Ngo

Saoko Sase

Nguyen Vu Tram Anh

人間総合科学研究科

生命システム医学

博士課程

Bui Quoc Thang

Changarathil Gopakumar

石井柳太郎

生命科学研究科

博士後期課程

辛 承幸

医学群医学類

霜田智成

医学群医療科学類

川副嘉恵

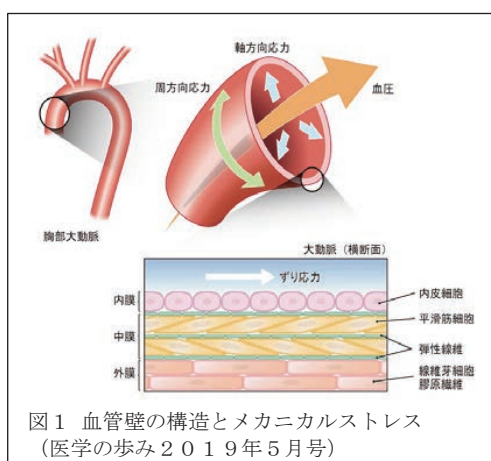
事務職員

東 真理子

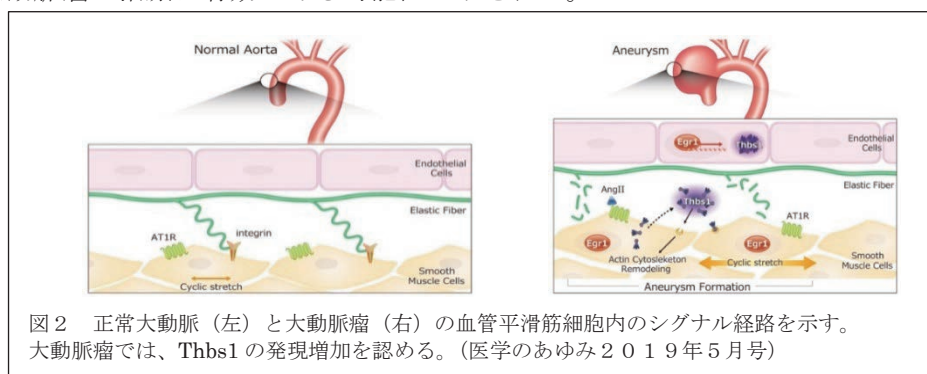
研究概要

【大動脈瘤形成におけるメカノトランスダクション機構の解明と疾患への応用】

血管壁のメカニカルストレスには、血圧、周方向応力、軸方向応力、血管内皮細胞へのずり応力などがある（図 1）。血管の伸び縮みを制御し、メカニカルストレス応答に重要な役割を担う弾性線維は、30以上の弾性線維結合因子によって形成されている。私たちの研究室では、fibulin-4 という弾性線維に結合する細胞外マトリクスを血管平滑筋細胞に特異的に欠損させて、生後発症の胸部大動脈瘤のマウスモデル (*Fbln4*^{SMKO} マウス) を作製した (Huang et al. *Circ Res* 2010)。このマウスを使った実験から、大動脈瘤の発症には、血管平滑筋細胞におけるメカニカルストレスの感知・伝達の異常が関与していること、その結果、アンジオテンシン II をはじめとする、細胞内のさまざまなシグナル経路が活性化されることわかってきた (Huang et al. *Sci Transl Med* 2013, Yamashiro et al. *Sci Sig* 2015)。



私たちは、*Fbln4*^{SMKO}マウス大動脈瘤の発症初期に、トロンボスポンディン1 (Thbs1) というマトリセルラータンパク質が、内皮細胞と内皮細胞近傍の平滑筋細胞で高発現していることを見出した (図2)。血管平滑筋細胞を使った実験では、アンジオテンシンII (AngII) によりThbs1の発現が誘導され、MEK (mitogen-activated protein kinase) 阻害剤PD0325901やPKC (Protein kinase C) 阻害剤Ro-31-8425、Gタンパク質共役受容体の脱感作を促すβ-arrestin2 (Arrb2) のノックダウンによって、Thbs1の発現が抑制された。すなわち、アンジオテンシンI型受容体 (AT1R) -PKC-MEK/ERK又はAT1R-Arrb2シグナルによってThbs1の発現が制御されている可能性が示された。また、Thbs1は周期的伸展刺激により発現が誘導され、Arrb2非依存的にメカニカルストレス応答転写因子Early growth response 1 (Egr1) を介していることが明らかとなった。さらに、*Fbln4*^{SMKO}において、Thbs1を遺伝的に欠損させると、病変部で見られた弾性線維と平滑筋細胞の結合障害や細胞骨格の異常なリモデリングが改善され、大動脈瘤の形成が抑止されることを見出した (Yamashiro et al. *Circ Res* 2018)。興味深いことに、胸部大動脈瘤患者の血管ではThbs1が高発現していることから、Thbs1の抑制が大動脈瘤の治療に有効である可能性が示された。



【マウス皮膚幹細胞の老化メカニズムの解明】

近年、加齢に伴う個体の機能低下の一因として、分化細胞の供給源である幹細胞の機能低下(幹細胞の老化)が提唱されている。しかし幹細胞の老化に関する知見の多くは、特定の組織や分子に着目した個別研究であり、幹細胞老化を統合的に理解するための基盤が不足している。我々は、マウス皮膚をモデルとし、幹細胞の加齢変化を細胞・分子レベルで比較解析することで、幹細胞老化の共通原理を探る研究をすすめている。

【腎石灰化に関わる細胞外マトリクスの同定】

慢性腎臓病 (CKD) の患者は世界人口の 10%にのぼり、国内でもすでに 1300 万人を越えるとされている。現在、世界中で 200 万人の CKD 患者が透析や腎移植を受けているが、治療を必要とする全患者数の 10%にも達していない。日本でも約 30 万人が人口透析を受けており、患者の生活の質的低下だけでなく、年間 1 兆円の国家の経済負担を生じている。しかし、一旦低下した腎機能を回復させることは極めて難しいため、CKD の早期発見と予防、進行を阻止する治療法の基盤開発が急務である。

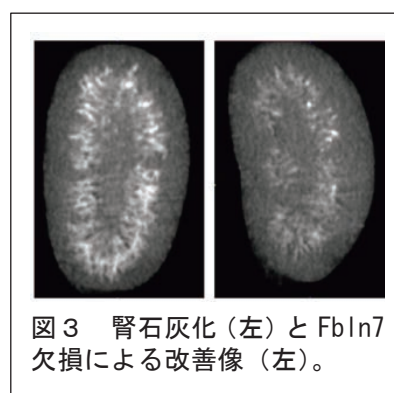


図3 腎石灰化(左)とFbln7欠損による改善像(右)。

私たちは、腎尿細管細胞に高発現するヘパリン結合性分泌因子フィブリン7 (Fbln7) に着目し、Fbln7 が腎尿細管細胞の外層を覆うグリコカリックスとよばれる糖タンパク群に結合し、腎石灰化を促進することを見出した。私たちが独自に作製した Fbln7 欠損マウスは、高リン食を与えると、野生型マウスと比べて明らかに腎石灰化が抑制され、尿細管周囲の炎症反応が軽減することがわかった(図3)。これにより、Fbln7 の阻害が CKD の進行を抑えることがわかり、抗 Fbln7 療法が CKD の治療法として有効であることを確認した (Tsunezumi et al. *Matrix Biol*, 2018)。

CKD をはじめとして、糖尿病や動脈硬化症などの慢性疾患に合併する石灰化は、予後の重要な指標として知られている。今後は、Fbln7 の阻害薬の開発を通して、CKD の早期治療を確立することを目指す。また、Fbln7 のグリコカリックスに結合するレクチン様性質を利用して、Fbln7 結合タンパク質の同定や異所性石灰化の分子メカニズムの解明を試みたい。

2018年度研究業績

原著論文 (全て査読あり)

Yamashiro Y, Thang BQ, Shin SJ, Lino CA, Nakamura T, Kim J, Sugiyama K, Tokunaga C, Sakamoto H, Osaka M, Davis EC, Wagenseil JE, Hiramatsu Y and Yanagisawa H.(2018)
Role of thrombospondin-1 in mechanotransduction and development of thoracic aortic aneurysm in mouse and humans. **Circ. Res.** 123(6):660-672.

van der Pluijm I, Burger J, van Heijningen PM, IJpma A, van Vliet N, Milanese C, Schoonderwoerd K, Sluiter W, Ringuette LJ, Dekkers DHW, Que I, Kaijzel EL, Te Riet L, MacFarlane EG, Das D, van der Linden R, Vermeij M, Demmers JA, Mastroberardino PG, Davis EC, Yanagisawa H, Dietz HC, Kanaar R, Essers J. (2018)
Decreased mitochondrial respiration in aneurysmal aortas of Fibulin-4 mutant mice is linked to PGC1A regulation. **Cardiovasc Res.** 114(13):1776-1793. DOI: 10.1093/cvr/cvy150

Tsunezumi J, Sugiura H, Oinam L, Ali A, Thang BQ, Sada A, Yamashiro Y, Kuro-O M and Yanagisawa H.(2018)
Fibulin-7, a heparin binding matricellular protein, promotes renal tubular calcification in mice. **Matrix Biol.** DOI: 10.1016/j.matbio.2018.04.014.

総説

Funato N, and Yanagisawa H.(2018)
Deletion of the T-box transcription factor gene, *Tbx1*, in mice induces differential expression of genes associated with cleft palate in humans. **Arch. Oral Biol.** 95:149-155.
DOI: 10.1016/j.archoralbio.2018.08.001. Epub ahead of print. (2018)

Yanagisawa H. and Wagenseil J.(2019)
Elastic fibers and biomechanics of the aorta: Insights from mouse studies. **Matrix Biology**,
DOI: 10.1016/j.matbio.2019.03.001. Epub ahead of print. (2019)

佐田亜衣子(2018)
上皮コンパートメントの幹細胞と障害に対する応答性の多様性、月刊「細胞」50(7): 11-14.

学会発表等 (国際学会*、招待講演**)

**柳沢裕美

“Fibulin-7 は腎尿細管石灰化に関与するヘパリン結合性マトリセルラータンパク質である”
第 50 回日本結合組織学会学術大会（福岡）2018 年 6 月

山城 義人, Seung Jae Shin, Bui Quoc Thang, Caroline A. Lino, 柳沢裕美
“Thrombospondin-1 を介した大動脈瘤血管壁の機械刺激応答”
第 50 回日本結合組織学会（福岡）口頭発表 2018 年 6 月

杉山夏緒里, Julia Marzi, Eva Brauchle, 山城義人, Katja Schenke-Layland, Hiromi Yanagisawa
“Label-free Raman imaging of elastic fibers in disease and healthy mouse aortic tissues”
Conference on advanced applied Raman spectroscopy Raman Fest（東京）ポスター発表 2018 年 6 月

Kaori Sugiyama, Julia Marzi, Eva Brauchle, Yoshito Yamashiro, Katja Schenke-Layland, Hiromi Yanagisawa
“Label-free Raman imaging of elastic fibers in disease and healthy mouse aortic tissues”
第 50 回日本結合組織学会学術大会（福岡）ポスター発表 2018 年 6 月

柳沢裕美
“細胞外マトリクスによる組織構築と恒常性維持のメカニズム”
生存ダイナミクス研究センターキックオフシンポジウム 筑波大学会館（つくば）2018 年 7 月

* Lalhaba Oinam, Gopakumar Changarathil, Jun Tsunozumi, Hiromi Yanagisawa, Aiko Sada
“Maintenance of heterogeneous epidermal stem cell populations by the distinct niche.”
Gordon Research Conference, Tissue Niches & Resident Stem Cells in Adult Epithelia（米国）ポスター発表 2018 年 8 月

* Sangeeta Ghuwalewala, Aiko Sada, Eva Leung, Tudorita Tumber
“Slc1a3 is expressed in a subset of the heterogeneous stem cell population within the inter follicular epidermis in mouse and human skin.”
Gordon Research Conference, Tissue Niches & Resident Stem Cells in Adult Epithelia（米国）ポスター発表 2018 年 8 月

** 柳沢裕美
“腎・血管における短鎖 Fibulins の役割”
第 91 回日本生化学会大会（京都）2018 年 9 月

**佐田亜衣子

“表皮における幹細胞ダイナミクス”

第91回日本生化学会大会（京都）2018年9月

**Yamashiro Yoshito

“Role of thrombospondin-1 in mechanotransduction and development of thoracic aortic aneurysm”

The 16th Korea-Japan Joint Symposium on Vascular Biology (Osaka, Japan) 2018年9月

**Yamashiro Yoshito

“Role of thrombospondin-1 in mechanotransduction and development of thoracic aortic aneurysm”

The 2nd JCS Council Forum on Basic Cardiovascular Research (Nara, Japan) 2018年9月

Seung Jae Shin, Yoshito Yamashiro, Thang Bui Quoc, Yuji Hiramatsu, Hiromi Yanagisawa.

“Role of PAR1-Egr1 in the initiation of thoracic aortic aneurysm”

The 16th Korea-Japan Joint Symposium on Vascular Biology（大阪）ポスター発表 2018年9月

Lalhaba Oinam, Gopakumar Changarathil, Kae Kawazoe, Hiroaki Tateno, Aiko Sada, Hiromi Yanagisawa

“Differential surface protein modifications during epidermal stem cell aging”

Tsukuba Global Science Week (TGSW)（つくば）ポスター発表 2018年9月

Kaori Sugiyama,

“Label-free Raman imaging of diseased and healthy mouse aortic tissues, “

Tsukuba Global Science Week (TGSW)（つくば）口頭発表 2018年9月

Shin Seung Jae, Yamashiro Yoshito, Yanagisawa Hiromi

“Role of PAR1-Egr1 in the initiation of thoracic aortic aneurysm”

2nd JCS Council on basic cardiovascular research（奈良）ポスター発表 2018年9月

Quoc Thang Bui, Yamashiro Yoshito, Shin Seung Jae, Sakamoto, Yuji Hiramatsu, Hiromi Yanagisawa

“The integrity of extracellular matrix affects transduction of mechanical stress in the aortic wall.”

The 2nd JCS council on basic cardiovascular research（奈良）ポスター発表 2018年9月

***Yanagisawa Hiromi

“Role of Short Fibulas in Maintenance of Vessel Walls”

American Society for Matrix Biology (アメリカ合衆国) 2018 年 10 月

* Yamashiro Yoshito, Bui Quoc Thang, Seung Jae Shin, Caroline Antunes Lino, Elaine C. Davis, Jessica E. Wagenseil, Yuji Hiramatsu, Hiromi Yanagisawa

“Role of thrombospondin-1 in mechanotransduction and development of thoracic aortic aneurysm”
Phosphatase Workshop (Tokyo, Japan) ポスター発表 2018 年 10 月

* Yamashiro Yoshito, Hiromi Yanagisawa

“Role of thrombospondin-1 in mechanotransduction and development of thoracic aortic aneurysm”
GenTAC Aortic Disease Summit (Portland, USA) 口頭発表 2018 年 10 月

Kaori Sugiyama, Julia Marzi, Eva Brauchle, Yoshito Yamashiro, Katja Schenke-Layland, Hiromi Yanagisawa

“Label-free Raman imaging of elastic fibers and collagen fibers in diseased and healthy mouse aortic tissues”

American Society for Matrix Biology Biannual Meeting (アメリカ合衆国) ポスター発表
2018 年 10 月

** 佐田亜衣子

“皮膚の再生を担う幹細胞ダイナミクス～発生から老化まで～”
富士フィルム講演会 (京都) 2018 年 11 月

杉山夏緒里, Julia Marzi, Eva Brauchle, 山城義人, Katja Schenke-Layland, Hiromi Yanagisawa

“ラベルフリー・ラマンイメージング法による大動脈疾患モデルマウスの弾性線維と膠原線維の解析”

第 3 回エラスチン・関連分子研究会学術集会 (東京) 口頭発表 2018 年 11 月

* Lalhaba Oinam, Aiko Sada, Gopakumar Changarathil, Kae Kawazoe, Hiromi Yanagisawa, Hiroaki Tateno

“Differential surface protein modifications during epidermal stem cell aging”

10th Asian Community of Glycoscience and Glycotechnology Conference (Tainan, Taiwan) ポスター発表 2018 年 11 月

石井柳太郎、柳沢裕美、佐田亜衣子

“眼表面上皮における幹細胞ダイナミクス解析”

第 41 回日本分子生物学会年会 (横浜) ポスター発表 2018 年 11 月

Lalhaba Oinam, Gopakumar Changarathil, Kae Kawazoe, Hiroaki Tateno, Hiromi Yanagisawa, Aiko Sada
“Differential surface protein modifications during epidermal stem cell aging”
第 41 回日本分子生物学会年会 (横浜) ポスター発表 2018 年 11 月

* * Yamashiro Yoshito

“Role of thrombospondin-1 in mechanotransduction and development of thoracic aortic aneurysm”
Cardiovascular and Metabolic Week (Tokyo, Japan) 2018 年 12 月

Lalhaba Oinam, Aiko Sada, Gopakumar Changarathil, Kae Kawazoe, Hiromi Yanagisawa, Hiroaki Tateno
“Differential surface protein modifications during epidermal stem cell aging”
9th Symposium of Indian Scientists Association In Japan (ISAJ) (つくば) ポスター発表
2018 年 12 月

Gopakumar Changarathil, Karina Ramirez, Hiroko Isoda, Aiko Sada, Hiromi Yanagisawa
“Wild-type and SAMP8 Mice Show Age-Dependent Changes in Distinct Stem Cell Compartments
of the Interfollicular Epidermis”
9th Symposium of Indian Scientists Association In Japan (ISAJ) (つくば) ポスター発表
2018 年 12 月

* * 柳沢裕美

“メカニカルストレス応答破綻による大動脈瘤形成とトロンボスポンディンの役割”
第 48 回日本心臓血管作動物質学会 (富山) 2019 年 2 月

Thang Bui Quoc, 山城義人, Chiho Tokunaga, Hiroaki Sakamoto, Hiroaki Sakamoto, Seung Jae
Shin, Hiromi Yanagisawa, Yuji Hiramatsu
“Comprehensive analysis of gene expression profiles between aneurysmal and non-aneurysmal
aortic wall in Marfan patients.”
第 49 回日本心臓血管外科学会学術集会 (岡山) 口頭発表 2019 年 2 月

* * 柳沢裕美

“Short fibulins in development and disease”
第 3 回ポドサイト研究会 (東京) 2019 年 3 月

* * * Yanagisawa Hiromi

“Roles of Mechanotransduction and Thrombospondin-1 in Development of Thoracic Aortic Aneurysm”
日本循環器学会 (横浜) 2019 年 3 月

受賞

山城義人

GenTAC Aortic Disease Summit Early Career Developing Award

学生の受賞

杉山夏諸里

2018年6月 RamanFest 2018 First Prize 受賞

2018年6月 第50回日本結合組織学会学術大会 Young Investigator award 受賞

2018年6月 日本結合組織学会 International Travel Award 受賞

2018年9月 Tsukuba Global Science Week 2018 Best Presentation award 受賞

辛 承宰

2018年9月 The 16th Korea-Japan Joint Symposium on Vascular Biology ポスター賞

2018年9月 第2回日本循環器学会基礎研究フォーラム ポスター賞

Lalhaba Oinam

2018年11月 第10回 Asian Community of Glycoscience and Glycotechnology Conference ポスター賞

新聞記事

佐田亜衣子

筑波大学新聞 第346号 2018年12月10日 [特集]Hello 先端研究

「幹細胞の定説覆す発見 老化、がん化の解明へ光」

アウトリーチ活動

柳沢裕美

2018年6月

上位層育成プログラム「多様な人材の評価」オープンセッション
ダイバーシティ研究環境実現イニシアティブ

2018年7月25日

コスモサイエンスツアーで来訪の愛知県立岡崎北高等学校の皆さんへ研究紹介

2018年9月

つくばグローバルサイエンスウィーク

TGSW 2018 意思決定プロセスへの女性の参画 パネルディスカッション

柳沢裕美、山城義人、佐田亜衣子

2018年9月7日 市川学園市川高等学校の皆さんへ研究紹介

山城義人

2018年2月～2018年8月

Summer Research Program in Tsukuba 2018 筑波大学

学会および社会的活動

柳沢裕美

2016年～2018年 米国マトリクス生物学会 隔年時総会プログラム委員

2018年～(現在) GenTAC Alliance Basic/Translational Science Working Group member

2018年11月 エラスチン関連分子研究会第3回学術集会 会頭

2017年～(現在) 日本結合組織学会 評議員

2016年～(現在) エラスチン関連分子研究会 幹事

山城義人

2018年4月～2020年3月 日本血管生物医学会 評議員

佐田亜衣子

2018年4月～2021年3月 日本研究皮膚科学会 評議員

2018年11月 第41回日本分子生物学会年会にてシンポジウム 共同座長

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

柳沢裕美

研究種目名：基盤研究 (B)

研究課題名：メカニカルストレス応答の破綻に着目した大動脈瘤形成メカニズムの解明

課題番号：17H04289

研究期間：2017年度～2020年度

研究種目名：喫煙科学研究財団(代表)
研究課題名：喫煙が大動脈瘤の自然発症に及ぼす影響
研究期間：2016年度～2019年度

研究種目名：SPRINT（筑波大学・FAPESP 共同研究プロジェクト）(代表)
研究課題名：大動脈瘤形成における内皮細胞機能不全の関与の研究
Contribution of endothelial dysfunction in progression of aortic aneurysm
研究期間：2018年11月～2019年度

佐田亜衣子
研究種目名：AMED/AMED-PRIME(代表)
研究課題名：「上皮幹細胞の老化プロセスの包括的理解：分裂頻度の異なる幹細胞に着眼して」
課題番号：18gm6110016h0001
研究期間：2018年度-2021年度（3.5年間）

研究種目名：科学研究費助成事業/新学術領域研究（研究領域提案型）公募研究(代表)
研究課題名：「分裂頻度の異なる幹細胞に着眼した表皮幹細胞老化メカニズムの解明」
課題番号：17H05631A01
研究期間：2017年度～2018年度（2年間）

研究種目名：科学研究費助成事業/若手研究（代表）
研究課題名：「組織の凹凸に着眼した上皮幹細胞の局在・機能制御とその加齢変化の解明」
研究期間：2018年度～2019年度（2年間）

研究種目名：科学技術人材育成のコンソーシアム構築事業「次世代研究者育成プログラム」
/Nanotech CUPAL N.R.P コース（代表）
研究課題名：「糖鎖プロファイリング技術を利用した幹細胞老化マーカーの同定とその分子
基盤の解明」
研究期間：2018年度（1年間）

研究種目名：武田科学振興財団/2018年度ライフサイエンス研究助成（代表）
研究課題名：「三次元的に組織構造と幹細胞局在を捉える：マウス遺伝学的手法と3Dプリンターを用
いたアプローチ」
研究期間：2018年度（1年間）

研究種目名：アステラス病態代謝研究会/2018 年度研究助成金（代表）
研究課題名：「ステムセルエイジングから紐解く上皮の加齢性機能低下」、
研究期間：2018 年度（1 年間）

研究種目名：内藤記念科学振興財団/2016 年度女性研究者研究助成金（代表）
研究課題名：「成体血管の再生メカニズムの解明」、
研究期間：2017 年度-2019 年度（3 年間）

研究種目名：中富健康科学振興財団/平成 29 年度研究助成金（代表）
研究課題名：「レクチンアレイ法を用いた幹細胞老化度指標の確立とその応用」
研究期間：2018 年度（1 年間）

研究種目名：ホーユー科学財団/平成 30 年度助成事業（代表）
研究課題名：「糖鎖プロファイリング技術を用いた幹細胞老化マーカーの網羅的探索」
研究期間：2018 年度（1 年間）

山城義人

研究種目名：科学研究費助成事業・若手研究（代表）
研究課題名：血管壁のメカノセンシングを起点とした新しい大動脈瘤発生メカニズムの解明
課題番号：18K15057
研究期間：2018 年度～2020 年度

研究種目名：日本応用酵素協会・若手研究助成（代表）
研究課題名：血管壁の機械刺激応答と病態形成を誘導するシグナル分子の解析
研究期間：2016 年度～2022 年度

研究種目名：武田科学振興財団・医学系研究奨励（代表）
研究課題名：大動脈瘤発生に関与するマトリセルラータンパク質の血管壁における機能解析
研究期間：2018 年度～2019 年度

研究種目名：MSD 生命科学財団・研究奨励（代表）
研究課題名：大動脈瘤の新規治療法開発のための基盤解析
研究期間：2018 年度～2019 年度

研究種目名：上原記念生命科学財団・研究奨励（代表）

研究課題名：血管壁のメカニカルストレス応答機構の解明

研究期間：2018年度～2019年度

研究種目名：日本心臓財団・入澤宏彩記念研究奨励（代表）

研究課題名：大動脈瘤マウスモデルを用いた血管壁の機械刺激応答メカニズムの解明

研究期間：2018年度～2019年度