

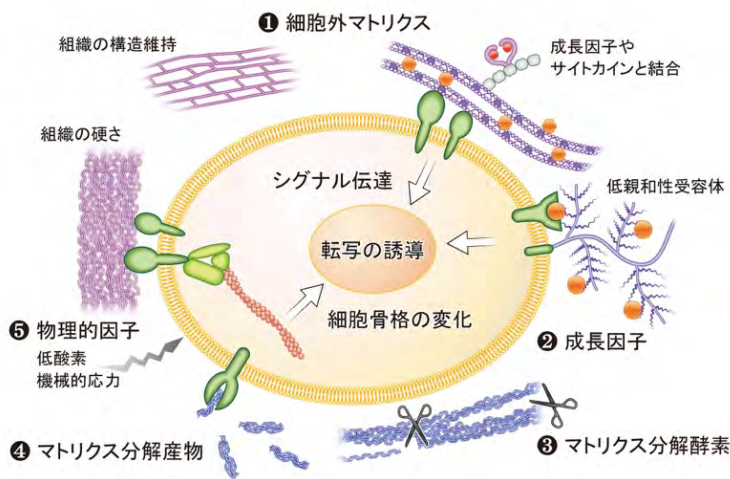
# 循環ダイナミクス

## 「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



2021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

2021年4月～7月助教

2021年8月～ 准教授

山城 義人

#### 助教

木村 健一

2021年4月

TARAセンター非常勤研究員

2021年5月～医学医療系

特任助教

石井柳太郎

#### 客員教授

館野 浩章

#### 客員准教授

佐田 亜衣子

#### 客員研究員

Erna Raja

杉山夏緒里

#### HBP 学位プログラム

Karina Ramirez

Yen Xuan Ngo

Tram Anh Vu Nguyen

#### 人間総合科学学術院

人間総合科学研究群 D

医学学位プログラム

Chang Liu

A.S.M. Sakhawat Hossain

#### ヒューマニクス学位

プログラム

MD AL AMIN SHEIKH

Maria Thea Rane Dela Cruz

Clarín

#### 生命環境学群

生物学類

Jun Hyeok Choi

#### 医学群医療科学類

本山 絵理

#### 技術職員

Keerthana Ranganathan

#### 事務職員

東 真理子

## 研究概要

### 【動脈疾患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*<sup>SMKO</sup>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を見出した(Huang et al. *Sci Transl Med* 2013, Yamashiro et al. *Sci Sig* 2015)。

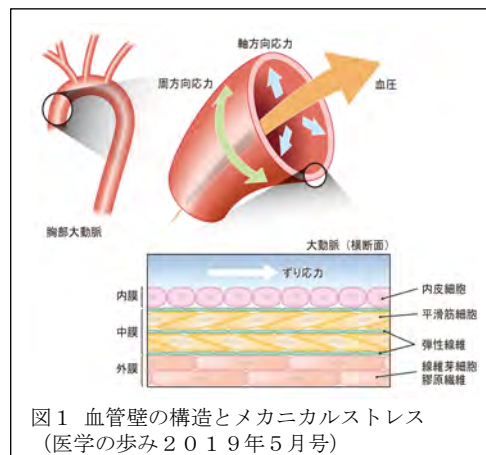


図1 血管壁の構造とメカニカルストレス  
(医学の歩み2019年5月号)

*Fbln4*<sup>SMKO</sup>マウス大動脈瘤の発症初期には、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おり、血管平滑筋細胞を使った実験から、Thbs1は周期的伸展刺激により発現が誘導されることがわかった。また、アンジオテンシンI型受容体(AT1R)シグナル経路下流でメカニカルストレス応答転写因子Early growth response 1 (Egr1)による転写制御を受けており、Thbs1や Egr1を欠損させると大動脈瘤が抑制されることを明らかにした(Yamashiro et al. *Circ Res* 2018, Shin et al. *ATVB* 2020)。本年度はこの大動脈瘤モデルを用いて、内皮細胞が瘤形成にどのように関与しているかを検討した。内皮細胞由来fibulin-4は、平滑筋細胞由来fibulin-4が欠損した条件で大動脈弁形成異常をおこし、大動脈瘤を増大させることを明らかにした。レーザーマイクロダイセクションを用いた大動脈弁のRNA発現解析から、この弁異常は、弁間質細胞の活性化と内皮間葉転換による可能性が示唆された(Nguyen et al. 投稿中)。

### 【大動脈瘤のラベルフリーイメージングと瘤特異的スペクトルマーカーの同定】

大動脈の血管壁を構成する成分として、コラーゲンなどの膠原線維や、エラスチンなどの弾性線維という細胞外マトリクスが知られており、その異常が大動脈瘤形成に関わることが報告されている。従って、細胞外マトリクスの変化を臨床的に観察することができれば、大動脈瘤形成の診断マーカーとなり得ると考えられる。近年、非侵襲的に生体分子構造情報を取得する方法として、分光学的手法が注目されている。その一つであるラマン分光法は、物質に光を当てた際に生じる、入射光とは異なるエネルギーを持つ散乱光(ラマン散乱)から、分子の振動などの分子構造情報を得るもので、医学分野への応用が進んでいる。

私たちは、ラマン分光法と多変量解析を組み合わせたアプローチにより、マウスとヒト

の大動脈瘤に特異的な、新規マーカースペクトル成分を同定するとともに、大動脈瘤の有無により、弾性線維および膠原線維の構造が異なっていることを解明した (Sugiyama et al. *Cell Reports Medicine*, 2021)。

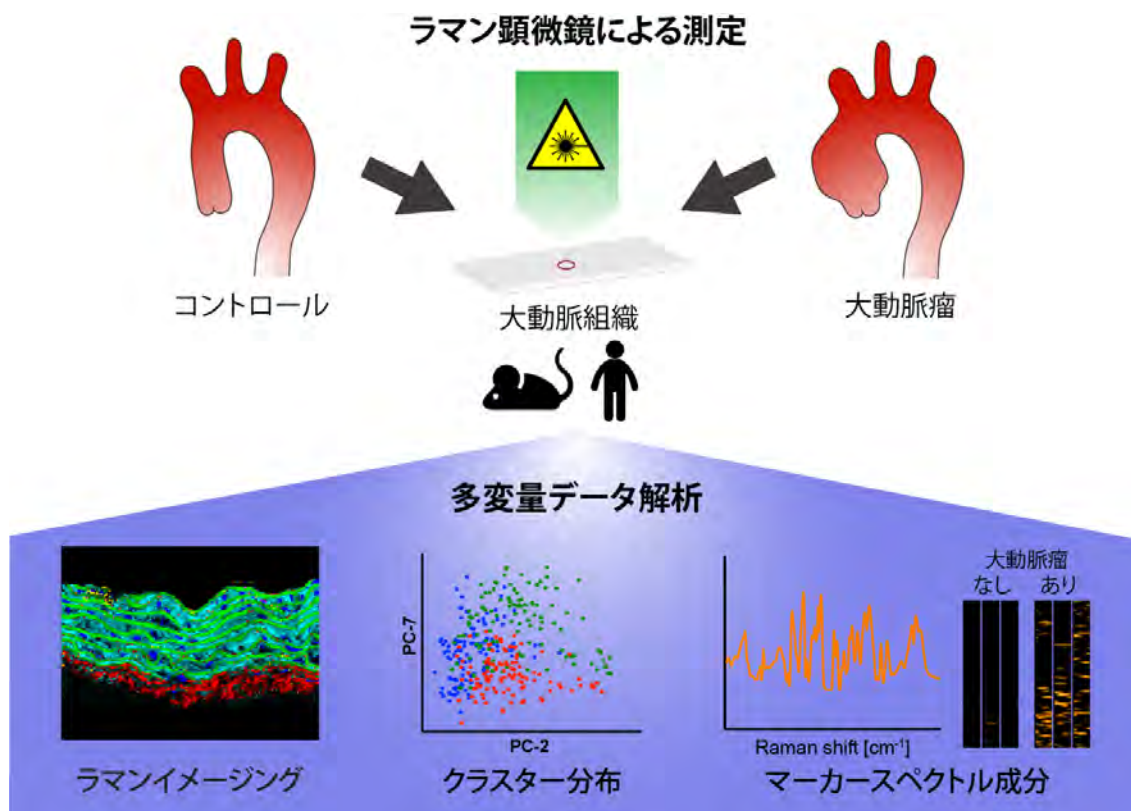


図 2. ラマン顕微鏡を用いた大動脈瘤特異的マーカーの検出

### 【血管障害時の新生内膜形成に関与する血管壁前駆細胞の同定】

アテローム性動脈硬化症による冠動脈狭窄症や頸動脈狭窄症と、それらに対するバルーン付きカテーテル操作やステント挿入後に生じる再狭窄などの血管疾患では、血管の内側の層が厚くなる新生内膜形成を伴うことがわかっている。これまでの研究で、新生内膜の形成には血管中膜に存在する細胞や血管外膜に存在する細胞が関与していることが知られていたが、新生内膜形成に関わる細胞の詳しい性質は不明な部分が多かった。そこで本研究では、血管壁に存在する細胞の挙動を追跡し、新生内膜形成に関わる細胞の動態の一端を明らかにした。

血管壁を構成する細胞では、血小板由来成長因子受容体アルファ (PDGFRα) が発現していることから、PDGFRα を発現する細胞を蛍光タンパク質で標識できるマウスを用いて、病状の異なる 3 種類の血管障害モデルを作製し、標識細胞が新生内膜形成にどのように関わ

るかを追跡した。その結果、血管損傷の程度によって新生内膜を構成する細胞の種類が異なること、さらに、PDGFRa 陽性細胞の血管障害に対する応答性が異なることを見いだした (Kimura and Ramirez, *Sci Rep* 2021)。本研究により、新生内膜形成機構における PDGFRa 陽性細胞の役割が明らかとなり、動脈硬化をはじめとした血管疾患治療の標的となり得る可能性を示唆した。

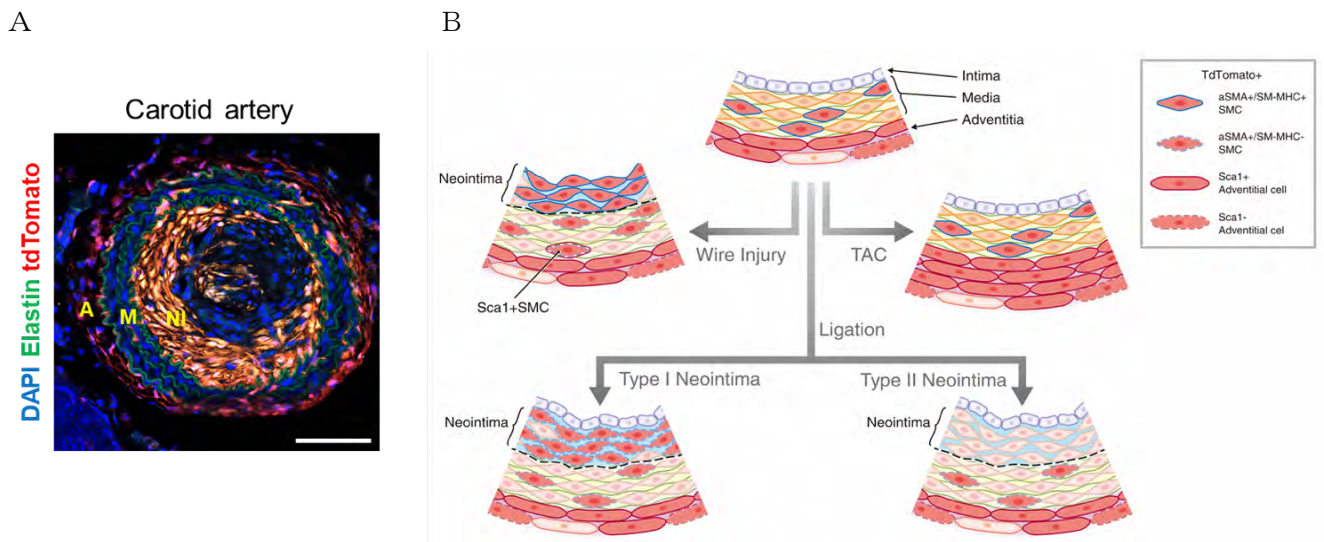


図3 血管障害における PDGFRa 陽性細胞の応答性の違い

### 【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。特に、幹細胞を支えるニッチの研究では、細胞外基質 fibulin-7 が、老化と共に幹細胞の増殖や分化をどのように制御しているかを、遺伝子改変マウスを用いて個体レベルでの研究を行なっている。

## 2021年度研究業績

### 原著論文（全て査読あり）

K. Kimura, M. Breitbach, FA. Schildberg, M. Hesse, BK. Fleischmann: Bone marrow CD73+ mesenchymal stem cells display increased stemness *in vitro* and promote fracture healing *in vivo*. **Bone Reports**15:101133-101133 <https://doi.org/10.1016/j.bonr.2021.101133>

K. Sugiyama †, J. Marzi †, E. M. Brauchle, M. Ando, Y. Yamashiro, B. Ramkhelawon, K. Schenke-Layland \*, H. Yanagisawa\* : Raman Microspectroscopy and Imaging Reveal Novel Biomarkers Specific for Thoracic Aortic Aneurysms. **Cell Reports Medicine** (2021) 2(5):100261 <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100261>

K. Kimura\*, K. Ramirez\*, T. A. V. Nguyen, Y. Yamashiro, A. Sada& H. Yanagisawa\* : Contribution of PDGFR $\alpha$ -positive cells in maintenance and injury responses in mouse large vessels. **Scientific Reports** (2021) 11:8683 <https://www.nature.com/articles/s41598-021-88126-6>

### 総説

H. Yanagisawa and U. Yokoyama: Extracellular matrix-mediated remodeling and mechanotransduction in large vessels during development and disease. **Cellular Signaling**. Invited Review. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2021.110104>

### 学会発表等（国際学会＊、招待講演＊＊）

柳沢裕美

＊＊シンポジウム Women Faculty Networking –ダイバーシティリーダーの育成–  
（口頭発表）

第62回日本神経学会 2021年5月19日

＊＊＊Plenary Lecture Matrix-mediated mechanotransduction In the aortic wall（口頭発表）  
Materials, Mimics, and Microfluidics: Engineering Tools for Mechanobiology (MBI 3M)  
Mechanobiology Institute of Singapore（オンライン）2021年7月21日（国際）

＊＊ラマン分光法を用いた大動脈瘤の新規イメージングとスペクトル解析（口頭発表）  
第53回日本動脈硬化学会 2021年10月23日

＊＊＊Matrix-cell Interactions and aortic diseases（口頭発表）  
North American Vascular Biology Organization Vascular Biology 2021（オンライン）  
2021年10月26日

＊＊細胞外マトリックスに着目した大動脈瘤のラマン分光イメージング法（口頭発表）

第29回日本血管生物医学会学術集会（オンライン） 2021年12月10日

新規Fbn1 遺伝子変異マウスを用いたマルファン症候群の大動脈解離発症機序の解明・座長

エラスチン・関連分子研究会学術集会 2021年12月18日

\* \* 新内膜形成における血管壁細胞の挙動と制御因子の解明（口頭発表）

Identification of vascular cells and their behavior involved in the neointima formation induced by vessel injury

第21回日本再生医療学会総会（オンライン） 2022年3月19日

山城義人

オーガナイズドセッション

「メカノバイオロジーの視点で紐解く、細胞応答の理解と機能制御」・座長  
細胞外マトリクスを介したメカノトランスダクションとその制御（口頭発表）

第60回日本生体医工学会大会（オンライン） 2021年6月16日

細胞外マトリクスを介したメカノトランスダクション（口頭発表）

MatriCellフォーラム 2021年8月28日

シンポジウム 「生化学で切り込む循環器研究の最前線」・座長

部分的間葉転換の役割と意義（口頭発表）

第94回日本生化学会 口頭発表 2021年11月5日

血管病態の発症に寄与する細胞外マトリクスを介したメカノトランスダクション（口頭発表）

第44回日本分子生物学会 2021年12月1日

\* Partial EndMT contributes to vessel wall remodeling after carotid artery ligation（口頭発表）

CVMW2021 国際心臓研究会 U45 Symposium - Rising star session- 2021年12月11日

木村健一

Overexpression of human BAG3P209L in mice causes restrictive cardiomyopathy（口頭発表）

第5回日本循環器学会基礎研究フォーラム 2021年9月11日

難治性筋原線維性ミオパチーの病態メカニズムの解明（口頭発表）

第94回日本生化学会大会 2021年11月3日

\* Overexpression of human BAG3P209L in mice causes restrictive cardiomyopathy（口頭発表）

CVMW 2021 オンライン 2021年12月10日

新規Fbn1 遺伝子変異マウスを用いた大動脈解離発症機序の解明（口頭発表）

第7回血管生物医学会若手研究会 2022年3月4日

石井柳太郎

\*\*細胞系譜解析を用いた角結膜幹細胞の動態解明（口頭発表）

石井 柳太郎, 木村 健一, 柳沢 裕美, 佐田 亜衣子

第16回和歌山TRP研究会 2021年11月22日

佐田亜衣子

Decision making for your life and career

IRCMS "Science and Me" 2021年4月9日

\*\* Stem cell dynamics in skin regeneration and aging

The 18th Stem Cell Research Symposium 2021年5月22日

\*\* 幹細胞ダイナミクスから紐解く皮膚再生と老化～サイエンスとキャリア、未来のお話～

東京大学定量研学生交流会 2021年6月16日

\*\* Science, Career, and the Future

RIKEN BDR Retreat 2021: 'Women in Science' session 2021年10月28日

\*\* 佐田亜衣子 : Elucidating the cellular and molecular mechanisms of epidermal stem cell aging

ISSCR/JSRM 2021 Tokyo International Symposium 2021年10月29日

\*\* 細胞外微小環境を介した皮膚幹細胞老化制御

第94回日本生化学会大会 2021年11月3日

\*\* 組織の再生と老化を担う幹細胞のはたらき

埼玉県立春日部高校SSH事業 2021年11月9日

細胞外マトリクスから紐解く皮膚幹細胞制御メカニズム

第44回日本分子生物学会年会 2021年12月1日

Erna Raja

The role of Fibulin-7 in the maintenance of mouse skin epidermal stem cells （口頭発表）

Erna Raja, Lalhaba Oinam, Gopakumar Changarathil, Jun Tsunozumi, Takako Sasaki, Kyoko

Imanaka-Yoshida, Aiko Sada, Hiromi Yanagisawa

第53日本結合組織学会学術大会 2021年6月26日

杉山夏緒里

Identification of biomolecular fingerprints specific for thoracic aortic aneurysms by Raman microspectroscopy and imaging combined with multivariate data analysis （口頭発表）

Kaori Sugiyama, Julia Marzi, Masahiro Ando, Yoshito Yamashiro, Bhama Ramkhalawon, Katja Schenke-Layland, Hiromi Yanagisawa

## The 5th JCS Council Forum on Basic Cardio Vascular Research

2021年9月11日～12日

ラマン分光法と多変量解析を用いた胸部大動脈瘤ラベルフリーイメージングと疾患特異的分子指紋の同定 (ポスター発表)

杉山夏緒里, Julia Marzi, Eva Maria Brauchle, 安藤正浩, 山城義人, Bhama Remkhelawon, Katja Schenke-Layland, 柳沢裕美

第94回日本生化学大会 2021年11月3日 - 2021年11月5日

学生の発表

Yen Xuan Ngo

\* Defining diversity and similarity of epithelial stem cell populations and their anatomical environment in murine skin and oral epithelium (ポスター発表)

Yen Xuan Ngo, Hiroko Kato, Kenji Izumi, Hiromi Yanagisawa, Aiko Sada

ISSCR 2021 2021年6月24日

本山絵理

新規Fbn1 遺伝子変異マウスを用いたマルファン症候群の大動脈解離発症機序の解明 (口頭発表)

本山絵理, 木村健一, 石井柳太郎, 杉山夏緒里, 山城義人, 神吉佐智子, 柳沢, 裕美  
エラスチン・関連分子研究会学術集会 2021年12月18日

## 受賞

山城義人

2021年10月 アステラス病態代謝研究会 (第51回研究報告会) 優秀発表賞

2022年3月 日本血管生物医学会若手の会 (第7回) 優秀プレゼンテーション賞

木村健一

2021年12月 第29回日本血管生物医学会学術集会 YIA優秀賞

## アウトリーチ活動

柳沢裕美

Women's Empowerment Roundtable at NABVO: Let's discuss challenges and solutions in a pandemic era. オーガナイザー 2021年10月21日 (オンライン)

## 学会および社会的活動

柳沢裕美

2021年～ (現在) Vascular Pharmacology, Editorial Board Member

2021年～ (現在) Frontiers in Cardiovascular Medicine, Associate Editor  
(Atherosclerosis and Vascular Medicine)



2021年～（現在）Frontiers in Cell and Developmental Biology, Guest Editor  
(Extracellular Matrix Dynamics in Biology, Bioengineering and Pathology -Volume II)  
2020年～（現在）Cells Editorial, Board Member  
2021年 第94回日本生化学会 2021年11月3日～5日 幹事  
2020年～（現在）International Vascular Biology Meeting, International Advisory Board  
2020年～（現在）North American Vascular Biology Organization,  
Diversity, Equity and Inclusion Committee  
2020年～（現在）日本結合組織学会 理事  
2019年～（現在）日本血管生物医学会 評議員  
2018年～（現在）GenTAC Alliance Basic/Translational Science Working Group, member  
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～2022年3月 日本血管生物医学会 評議員  
2021年7月～（現在）日本血栓止血学会 学術推進委員  
2021年6月～ 国際心臓研究学会・日本部会 U45 セクションリーダー

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

#### 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（代表）

研究課題名：メカノトランスダクションを基軸とした大動脈瘤発症機序の解明と破裂予測  
の基礎研究

課題番号：20H03762

研究期間：2020年度～2022年度

研究種目名：東京生化学研究会・研究助成（代表）

研究課題名：表皮幹細胞の接着と増殖を担うFibulin-7の生化学特性の解明

研究期間：2019年度～2021年度

研究種目名：科学研究費助成事業/基盤研究B（分担）

研究課題名：上皮幹細胞コンパートメントを規定する分子機構と生物学的意義の解明

課題番号：20H03266

研究期間：2020年度～2023年度

研究種目名：国立研究開発法人日本医療研究開発機構/AMED 難治性疾患実用化研究事業  
研究課題名：新規大動脈解離マウスモデルを用いたマルファン症候群等類縁疾患の大動脈解離発症機序の解明  
課題番号：21ek0109553h0001  
研究期間：2021年度～2023年度

研究種目名：科学研究費助成事業/国際共同研究加速基金（国際共同研究強化（B））（代表）  
研究課題名：ミクロフィブリル変異による大動脈解離の病態解明  
課題番号：21KK0151  
研究期間：2021年度～2024年度

山城義人

研究種目名：武田科学振興財団・医学系研究奨励・継続（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：2020年度～2022年度

研究種目名：MSD 生命科学財団・研究奨励・継続（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：2020年度～2022年度

研究種目名：科学研究費基金 挑戦的研究(萌芽)（代表）  
研究課題名：機能性素材を応用した血管オルガノイドの作製  
課題番号：21K19881  
研究期間：2021年度～2022年度

研究種目名：科学研究費基金 基盤研究B（分担）  
研究課題名：細胞骨格と核との「繋がり」に基づく細胞の恒常性維持機構の解明  
課題番号：21H03804  
研究期間：2021年度～2023年度

研究種目名：科学研究費基金 基盤研究B（代表）  
研究課題名：血管壁の恒常性維持と病態形成におけるメカノトランスダクション機序の解明  
課題番号：21H02677  
研究期間：2021年度～2024年度

研究種目名：国立研究開発法人日本医療研究開発機構/AMED  
循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業

研究課題名：細胞外マトリクスを介した血管リモデリング機構の解明と加齢変化の解析  
課題番号：22ek0210158h0002  
研究期間：2021年度～2023年度

研究種目名：三菱自然科学財団 若手助成  
研究課題名：血管壁の恒常性維持を担う、メカノトランスダクション機構の解明  
研究期間：2020年1月～2022年12月

研究種目名：公益財団法人 難病医学研究財団  
研究課題名：難治性血管疾患の病態解明  
研究期間：2021年10月～2022年9月

研究種目名：財団法人ノバルティス科学振興財団 研究奨励金  
研究課題名：細胞外マトリクスを介した血管機能を制御する新しい分子メカニズムの解と  
マウスモデルを用いた治療効果の検証  
研究期間：2021年度

木村健一

研究種目名：テルモ生命科学振興財団 2020年度 研究助成（代表）  
研究課題名：細胞系譜解析から紐解く骨髄造血微小環境の形成機構の解明  
研究期間：2020年12月 - 2021年12月

研究種目名：先進医薬研究振興財団 令和2年度若手研究者助成（代表）  
研究課題名：細胞系譜解析を用いた骨髄造血微小環境の形成メカニズムの解明  
研究期間：2020年12月 - 2021年12月

研究種目名：上原記念生命科学財団 2020年度 研究奨励金（代表）  
研究課題名：細胞系譜解析から紐解く骨髄微小環境形成機構の解明  
研究期間：2021年1月 - 2022年4月

研究種目名：かなえ医薬振興財団（代表）  
研究課題名：微小発現解析による大動脈解離の新規バイオマーカーの探索  
研究期間：2021年11月～2023年3月

研究種目名：科学研究費助成事業/国際共同研究加速基金（国際共同研究強化（B））（分担）  
研究課題名：ミクロフィブリル変異による大動脈解離の病態解明  
課題番号：21KK0151  
研究期間：2021年度～2024年度

石井柳太郎

研究種目名：科学研究費助成事業/国際共同研究加速基金（国際共同研究強化（B））（分担）

研究課題名：マイクロフィブリル変異による大動脈解離の病態解明

課題番号：21KK0151

研究期間：2021年度～2024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：20gm6110016

研究期間：2018年度～2021年度

研究種目名：科学研究費助成事業/基盤研究(B)（代表）

研究課題名：上皮幹細胞コンパートメントを規定する分子機構と生物学的意義の解明

課題番号：20H03266

研究期間：2020年度～2023年度

研究種目名：科学研究費助成事業/挑戦的研究（萌芽）（代表）

研究課題名：皮膚幹細胞の糖鎖をターゲットとした老化制御に向けての基盤研究

課題番号：20K21431

研究期間：2020年度～2021年度

研究種目名：AMED 再生医療実現拠点ネットワークプログラム（幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム）若手

研究課題名：組織の凹凸を保持した三次元皮膚モデルの構築と評価指標の確立

研究期間：2021年度～2023年度

研究種目名：内藤記念科学振興財団 2020年度次世代育成支援研究助成金（代表）

研究課題名：皮膚老化に伴う組織幹細胞ダイバーシティ破綻機構の解明

研究期間：2021年4月～2024年3月

研究種目名：アステラス病態代謝研究会 2020年度研究助成金（代表）

研究課題名：加齢皮膚の幹細胞で見られる特徴的糖鎖の機能解析

研究期間：2021年4月～2022年10月

Erna Raja

研究種目名：科学研究費助成事業/研究活動スタート支援（代表）

研究課題名：Defining the mechanism of epidermal stem cell heterogeneity in skin aging

課題番号：20K22659

研究期間 : 2020 年度～2021 年度

杉山夏緒里

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 : マルチオミックス解析による大動脈瘤破裂の血管リモデリング機構解明

課題番号 : 21K15366

研究期間 : 2021 年度～2023 年度

研究種目名 : AMED 再生医療実現拠点ネットワークプログラム (幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム) 若手 (分担)

研究課題名 : 組織の凹凸を保持した三次元皮膚モデルの構築と評価指標の確立

研究期間 : 2021 年度 - 2023 年度

研究種目名 : 科学研究費助成事業/国際共同研究加速基金 (国際共同研究強化 (B)) (分担)

研究課題名 : ミクロフィブリル変異による大動脈解離の病態解明

課題番号 : 21KK0151

研究期間 : 2021 年度～2024 年度