

2024年3月13日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学

高血糖下の細胞研究は酸素濃度に要注意 血管恒常性を左右する血管内皮細胞の環境応答の解明

【発表のポイント】

- 血管の内側（内腔）を覆う血管内皮細胞^{（注1）}は、周囲の環境の変化に対し、隣り合う細胞と相互に影響を及ぼしながら移動（遊走）することで血管恒常性^{（注2）}を維持しています。
- 細胞周囲のグルコースと酸素は、細胞の代謝を介して血管内皮細胞の集団的な遊走に影響を与えることと、低酸素環境では高グルコースによる遊走の増加を抑制することを明らかにしました。
- 本研究成果は、血管恒常性の維持に関する重要な知見であり、将来的には血管疾患の発症メカニズムの解明や、その予防法の創成につながるものと期待されます。

【概要】

血管内腔を覆う血管内皮細胞は、環境因子の変化を受けて集団的に遊走することで血管恒常性を維持していますが、そのメカニズムの詳細は不明です。

東北大学流体科学研究所の船本健一准教授、曾根一輝氏（大学院医工学研究科）、徳島大学の立川正憲教授、東京農工大学の吉野大輔准教授らの共同研究チームは、血管内皮細胞単層の周囲のグルコース濃度と酸素濃度が細胞の動態に与える影響と、その変化のメカニズムについて研究しました。

様々なグルコース濃度に調整した細胞培養液と、細胞周囲の酸素濃度を厳密かつ即時的に制御することができるマイクロ流体デバイス^{（注3）}を用いた細胞実験により、血管内皮細胞の遊走は高グルコース環境では増加する一方、低酸素環境（負荷）を同時に与えると抑制されることを明らかにしました。また、この細胞動態の変化には、細胞内のATP産生が関与していることを示しました。これらの発見は、血管内皮細胞周囲の環境因子の変化に対して、血管恒常性が維持されるメカニズムの解明に向けた重要な知見です。

本成果は3月2日（現地時間）付けでScientific Reportsに掲載されました。

【詳細な説明】

研究の背景

食事により体内に取り込まれたグルコースは、細胞内に取り込まれた後、代謝により分解され最終的には ATP の形でエネルギーとして用いられます。代謝には酸素を使用しない嫌気性代謝（解糖系）と酸素を使用する好気性代謝（クエン酸回路および電子伝達系）があり、エネルギー産生には生体内の酸素も非常に重要です。しかし、従来の細胞培養実験では実験方法を簡略化するため、実際の生体内に見られる低酸素環境についてはあまり考慮されてきませんでした。近年、慢性的な高血糖による糖尿病の合併症には、生体内の低酸素環境の寄与が指摘されており、高グルコース・低酸素環境に対する細胞の応答を明らかにすることは、疾患のメカニズム解明やその予防策の提案のために重要であると考えました。

血管の内腔を単層で覆う血管内皮細胞は、周囲の環境因子の変化に対し、隣り合う細胞同士が影響し合いながら遊走することで血管恒常性を維持しています。本研究グループは、先行研究において、血管内皮細胞が酸素濃度の変化に応じて集団的な遊走を変化させることを発見しました^(参考文献 1)。酸素濃度が 1.7% 程度の環境では、細胞間接着を担う VE-カドヘリンと呼ばれるタンパク質が細胞質に取り込まれ、細胞同士の接着が弱まることで遊走速度が増加しました。これに対し、酸素濃度が 1% 未満の極めて低い環境では、細胞の遊走速度は減少しましたが、そのメカニズムについては検討の余地が残っていました。さらに、以前の研究では、実験時の細胞培養液中のグルコース濃度は通常値（5.5 mM）で一定としていたため、細胞周囲のグルコースと酸素による細胞への複合的な影響については不明でした。

今回の取り組み

本研究では、血管内皮細胞の集団的な遊走に対し、周囲のグルコース濃度および酸素濃度が与える複合的な影響とそのメカニズムについて調べることを目的に、マイクロ流体デバイスを用いて細胞実験を行いました。

グルコース濃度を調節した細胞培養液と、酸素濃度を厳密かつ即時的に制御できる独自のマイクロ流体デバイス^(参考文献 2)を用いて、デバイス内に形成した血管内皮細胞単層の周囲のグルコース濃度と酸素濃度を同時に制御し、タイムラプス観察を行って細胞の遊走速度を計測しました（図 1）。また、ミトコンドリアの機能を阻害する試薬を添加した細胞培養液を用いて実験を行うことで、遊走の変化における細胞内の好気性代謝の役割について考察しました。

その結果、血管内皮細胞の遊走速度は、酸素が豊富にある常酸素条件（酸素濃度 21%）では高グルコース環境において増加したのに対し、低酸素条件（酸素濃度 0.3%）では高グルコース環境下にあっても減少しました。さらにミトコンドリアにおける好気性代謝による ATP 産生を阻害した際も同様に、高グルコ

一環境下にあっても遊走速度は減少しました（図 2）。これらの結果から、血管内皮細胞の集団的な遊走に与える影響は、グルコースよりも酸素の方が支配的であると考えられ、そのメカニズムには細胞内における ATP 産生が関わっていることがわかりました。これは血液中の環境因子の変化に対して血管恒常性が維持されるメカニズムの解明に繋がる重要な知見です。

今後の展開

血管内皮細胞の血管恒常性を維持するメカニズムの解明は、糖尿病の合併症である動脈硬化などをはじめとする血管疾患の発症メカニズムの解明や、それらの予防法の創出に貢献することが期待されます。今後、他の様々な環境因子を複合的に作用させた際の血管内皮細胞の集団的な遊走の変化を調べるとともに、デバイス内に 3 次元の血管網を構築し、物質透過性など血管の機能に与える影響とそのメカニズムについて研究する予定です。

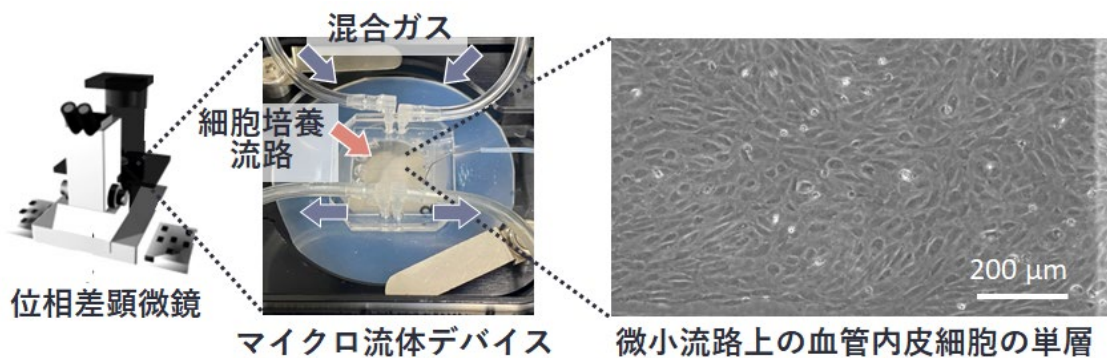


図 1. マイクロ流体デバイスを用いた実験システム

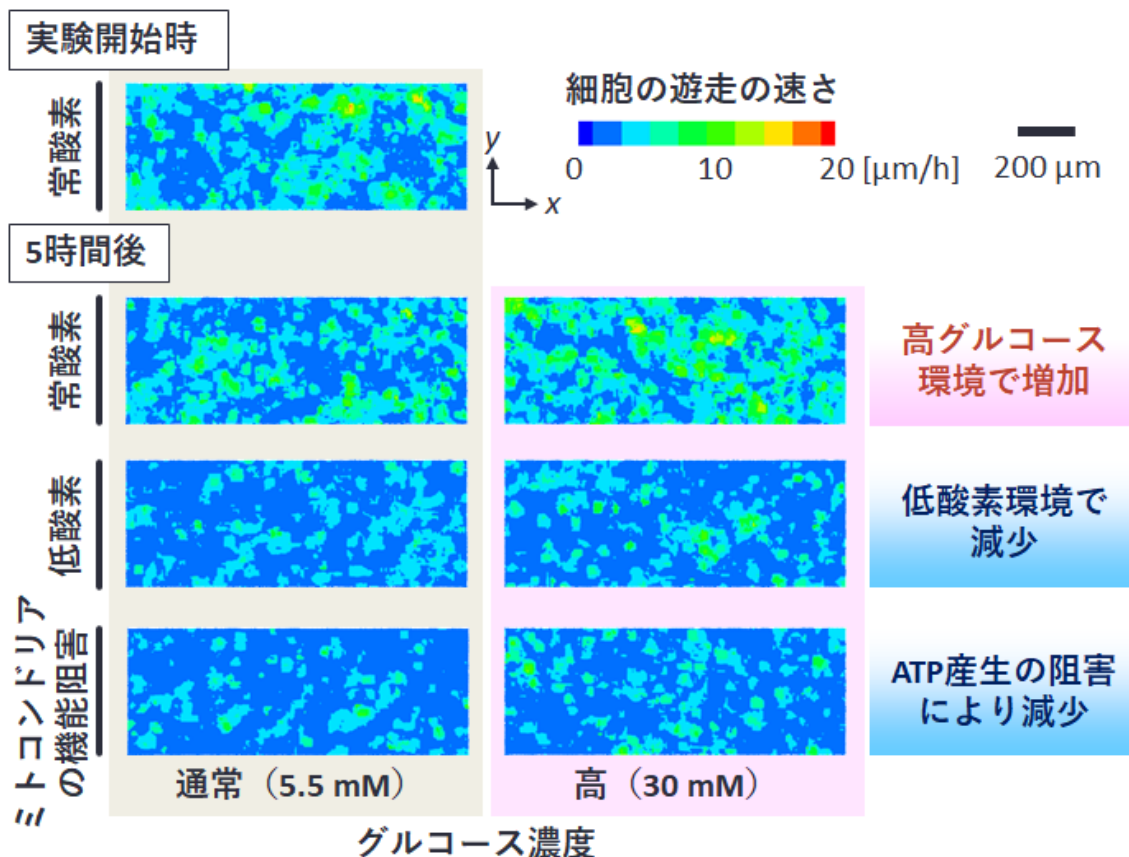


図 2. 血管内皮細胞の集団的な遊走は高グルコースにより増加するが、低酸素負荷により抑制され、ミトコンドリアによるエネルギー産生が関与している。

【謝辞】

本研究は、科学技術振興機構（JST）の戦略的創造研究推進事業 さきがけ「複雑な流動・輸送現象の解明・予測・制御に向けた新しい流体科学（研究総括：後藤晋）」における研究課題「間質環境の再現と制御による細胞動態の操作技術の創成（研究代表者：船本健一、JPMJPR2208）」および「次世代研究者挑戦的研究プログラム（JPMJSP2114）」による支援を受けました。

【用語説明】

- 注1. 血管内皮細胞：血管は内側から、内膜、中膜、外膜と区分され、血管内皮細胞は内膜を単層で構成する細胞である。血管内皮細胞は常に血流に接しており、血液と生体組織間の栄養や不要物などの物質交換に深く関与している。
- 注2. 血管恒常性：外部から受ける刺激や環境の変化に対して、身体の状態を一定に保つことを生体恒常性といい、特に血管の正常な状態を維持することを血管恒常性という。

注3. マイクロ流体デバイス：マイクロサイズの流路を有し、その流路内部の流体を制御しながら細胞培養を行うことができるデバイス。一般的に透明でガス透過性の高いポリジメチルシロキサン（PDMS）を用いて作製される。近年、心臓や肺などの臓器の機能を生体外に再現する臓器機能チップ（Organ-on-a-chip）と呼ばれる様々なデバイスが開発され、各臓器内の細胞群の動態を解明する研究に用いられている。

【参考文献】

1. Satomi Hirose, Yugo Tabata, Kazuki Sone, Naoyuki Takahashi, Daisuke Yoshino, Kenichi Funamoto, P21-activated kinase regulates oxygen-dependent migration of vascular endothelial cell in monolayers, *Cell Adhesion & Migration* 15, 272-284 (2021). DOI: 10.1080/19336918.2021.1978368
2. Satomi Hirose, Jean-Paul Rieu, Olivier Cochet-Escartin, Christophe Anjard, Kenichi Funamoto, The oxygen gradient in hypoxia conditions enhances and guides *Dictyostelium discoideum* migration, *Processes* 10, 318 (2022). DOI: 10.3390/pr10020318

【論文情報】

タイトル：Hypoxia suppresses glucose-induced increases in collective cell migration in vascular endothelial cell monolayers

著者：Kazuki Sone, Yuka Sakamaki, Satomi Hirose, Mai Inagaki, Masanori Tachikawa, Daisuke Yoshino, Kenichi Funamoto*

*責任著者：東北大学流体科学研究所 准教授 船本健一

掲載誌：Scientific Reports

DOI：10.1038/s41598-024-55706-1

URL：https://rdcu.be/dz8Tg

【問い合わせ先】

（研究に関すること）

東北大学流体科学研究所

准教授 船本 健一（ふなもとけんいち）

TEL: 022-217-5878

E-mail: funamoto@tohoku.ac.jp

（報道に関すること）

東北大学流体科学研究所

広報戦略室

TEL: 022-217-5873

E-mail: ifs-koho@grp.tohoku.ac.jp