

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		低酸素状態の神経組織における血管バリアー機能の制御			
研究テーマ (欧文) AZ		Barrier function of neural blood vessels under hypoxia			
研究氏 代表名 者	カナ CC	姓) イケダ	名) エイジ	研究期間 B	2009 ~ 2011 年
	漢字 CB	池田	栄二	報告年度 YR	2011 年
	ローマ字 CZ	Ikeda	Eiji	研究機関名	山口大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		山口大学大学院医学系研究科・教授			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>神経細胞が正常に機能するためには、脳血管が血液脳関門などのバリアーを形成することにより、神経組織の微小環境が至適状態に維持されることが必須である。脳血管バリアー機能は、内皮細胞間に形成される tight junction strand の複雑性に依存する。これまで我々は、種々の神経系疾患において、病変部局所の組織低酸素状態を誘因とし、「血管内皮細胞の細胞膜への tight junction 構成分子 claudin-5 の局在低下 ⇒ 内皮細胞間 tight junction の改築 ⇒ バリアー機能の破綻」が起こり病態悪化に働くこと、その過程に ubiquitin-proteasome 系が関与することを明らかにしてきた。そこで、本研究計画では、神経系血管内皮細胞における酸素濃度依存性 claudin-5 発現制御機構について、さらに詳細な解析を進めた。実験系としては、マウス脳血管内皮細胞株 bEND.3 細胞を用いた in vitro 脳血管バリアーモデル系を使用した。そして、低酸素刺激下(1%酸素濃度)の血管内皮細胞における細胞膜への claudin-5 局在低下が、claudin-5 を細胞膜から除去する機構により制御されていること、その細胞膜からの claudin-5 除去が、metalloproteinase 阻害剤により抑制されることを見出した。即ち、酸素濃度依存性の claudin-5 発現制御が、ubiquitin-proteasome 系とともに、metalloproteinase 活性に依存することを見出した。さらに、bEND.3 細胞層の電気抵抗値測定などにより、metalloproteinase 活性が、細胞膜からの claudin-5 の消失を通じ、血管バリアー機能の破綻に働いていることを示した。低酸素刺激 24 時間後(慢性期)のみならず 30 分後(超急性期)の claudin-5 発現動態変化にも metalloproteinase 活性が関与することから、その metalloproteinase 活性の責任因子は、正常酸素状態下の内皮細胞において既に発現している分子であると推察された。そこで、正常酸素濃度下 bEND.3 細胞において発現のみられる metalloproteinase 活性を有する分子を検索し、酸素濃度依存性 claudin-5 発現制御因子の候補とした。現在、それらの候補のなかから、siRNA 等を用いた発現抑制系にて責任因子の特定を進めている。また我々は、claudin-5 分子の C-末端に GFP タグを付加した癒合タンパク質を発現する bEND.3 株を作製し、蛍光顕微鏡下において、tight junction の構築・改築を strand レベルで動的かつリアルタイムに観察する系を樹立した。この系を用いて、脳血管バリアー機能を規定する tight junction strand 複雑性をモニターすることにより、酸素濃度に依存して変化する血管バリアー機能の微細調節機構についても解析を進めている。</p>					
キーワード FA	vascular barrier	hypoxia	tight junction	claudin-5	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

Homeostasis of the microenvironment in neural tissues which is maintained by vascular barrier such as blood-brain barrier is indispensable for normal functioning of neural cells. Accumulative evidence has demonstrated that the vascular barrier function is impaired in various neurological disorders, resulting in the acceleration of their disease progression, and the pathological tissue hypoxia in their neural lesions has been highlighted as the trigger of vascular barrier disruption. Our previous results have showed that the hypoxia-induced disruption of vascular barrier is mediated by the disappearance of claudin-5 from the cell membrane of vascular endothelial cells and the subsequent remodeling of tight junction strands between endothelial cells, and that ubiquitin-proteasome system is involved in hypoxia-induced remodeling of tight junctions. Therefore, we focused this study on the analysis of detailed mechanisms underlying the oxygen-dependent regulation of claudin-5 expression. Using the bEND.3 cells, a mouse brain-derived endothelial cells, we found that the hypoxia-induced disappearance of claudin-5 from cell membrane is inhibited in the presence of an inhibitor for metalloproteinases. Functional analyses, including the measurement of transendothelial electrical resistance (TEER) of bEND.3 monolayer, revealed the crucial roles of metalloproteinase activity in the hypoxic breakdown of neural vascular barrier through changes in claudin-5 expression. Metalloproteinase activity was shown to be required not only in chronic (24hours) but also in superacute (30 minutes) phase of hypoxic remodeling of neural vascular barrier. On the basis of above findings, the molecules with metalloproteinase activity which are already expressed in normoxic bEND.3 are now being screened to specify the responsible molecule for oxygen-dependent regulation of neural vascular barrier function. In addition, we have established an *in vitro* realtime monitoring system for the complexity of tight junction strands which determines the barrier property of endothelial monolayer, in order to analyze more detailed mechanisms of oxygen-dependent regulation of vascular barrier.