

令和 2 年 5 月 18 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K18156

研究課題名(和文) 新生児慢性肺疾患における細胞内抗酸化物質チオレドキシンの重要性に関する研究

研究課題名(英文) The importance of thioredoxin in the neonatal chronic lung disease

研究代表者

長野 伸彦 (NAGANO, Nobuhiko)

日本大学・医学部・准教授

研究者番号：90794701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：高濃度酸素投与は、新生児肺障害を治療するのにしばしば用いられるが、長い期間の高濃度酸素投与は新生児慢性肺疾患のリスクを増加させる。一方で、細胞には過度の酸化ストレスから保護するための抗酸化システムがあり、TRXは抗酸化物質の中に含まれる。成獣の肺障害マウスモデルについてのTRXの防御効果は、すでに多く報告されている。我々は今回の研究でTRXが新生仔マウスの高濃度酸素性肺障害に対しても防御効果があることを示した。その防御効果の一因は、TRXが炎症性マーカーであるIL-6、MCP-1、CXCL2の肺内mRNA発現を有意に減少させ、マクロファージの遊走を阻害するためと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

TRXトランスジェニックマウスは新生仔期高濃度酸素暴露による高濃度酸素性肺傷害に対する防御効果を示した。炎症性マーカーであるIL-6、MCP-1、CXCL2の肺内mRNA発現が有意に減少し、マクロファージの遊走を阻害した。本研究結果から、ヒト組み換えチオレドキシシン蛋白は新生児慢性肺障害に対して有効である可能性があると考えられるが、臨床応用に向けては、新生児慢性肺障害マウスモデルに対するヒト組み換えチオレドキシシン蛋白の有効性を検証する必要がある。

研究成果の概要(英文)：We investigated thioredoxin-1 (TRX) impact on hyperoxic lung injury in newborn TRX transgenic (TRX-Tg) and wildtype (WT) mice exposed to 21% or 95% O₂ for four days, after which some mice were allowed to recover in room air for up to 14 days. Lung morphology was assessed by hematoxylin/eosin and elastin staining, as well as immunostaining for macrophages. The gene expression levels of proinflammatory cytokines were evaluated using quantitative real-time polymerase chain reaction. During recovery from hyperoxia, TRX-Tg mice exhibited an improved mean linear intercept length and increased number of secondary septa in lungs compared with the WT mice. Proinflammatory cytokines mRNA expression levels were reduced in the lungs of TRX-Tg mice compared with the WT mice during recovery from hyperoxia. These results suggest that in newborn mice TRX ameliorates hyperoxic lung injury during recovery likely through the suppression of proinflammatory cytokines.

研究分野：周産期医学

キーワード：チオレドキシシン 新生児慢性肺障害 新生仔マウス 高濃度酸素暴露 肺胞発達遅延の抑制 炎症性マーカーの上昇抑制 マクロファージの遊走抑制

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

新生児慢性肺疾患 (Chronic lung disease: CLD) は、早産児、特に超早産児 (在胎期間 28 週未満) で最もよく見られる慢性呼吸器疾患である。高濃度酸素・炎症・遺伝・敗血症・機械的人工換気等が原因と報告されている多因子疾患である。肺発達の異常または停止を特徴とし、将来の肺気腫の早期発症や呼吸機能低下を生じやすい。

今のところ、有効な治療法はないとされている。抗酸化酵素であるチオレドキシン (TRX) は、酸化還元活性を有する SH 基を持つ抗酸化作用 (酸化ストレス / 活性酸素からの保護作用) と抗炎症作用 (白血球とりわけ好中球の炎症部位への血管外漏出を抑制) を併せ持つ抗酸化物質である。TRX の有効性を示した動物モデルとしては、喘息モデル (慢性抗原暴露) 肺傷害モデル (ディーゼル排気微粒子) 肺傷害モデル (炎症性サイトカイン) 肺傷害モデル (プレオマイシン) 肺炎モデル (インフルエンザ) 肺気腫モデル (たばこ煙) 早産モデル (LPS) などが報告されている (1-10)。TRX を過剰発現させたマウスは成獣において高濃度酸素性肺障害に対し防御作用を示すが、新生児における TRX の重要性については未だ解明されていない。また、血清 TRX-1 値と CLD との関連について検討を行った報告はない。

2. 研究の目的

我々は、細胞内抗酸化物質である TRX のトランスジェニックマウスを用い、新生児仔期の高濃度酸素性肺傷害における hTRX の重要性を明らかにすることと早産児における血清 TRX-1 値と CLD との関連を明らかにすることを研究の目的とした。

3. 研究の方法

TRX トランスジェニック (TRX-Tg) 野生型 (WT) 新生児マウスに対し高濃度酸素またはルームエアを 96 時間暴露した。日齢 4、14 で肺を摘出し、(1) HE 染色、エラスチン染色、免疫染色を用いての組織学的検討、(2) 定量 PCR を用いての遺伝子定量解析を行った。また、早産児 25 名の出生時と日齢 14 の血清 TRX-1 値を ELISA で測定を行い、CLD と TRX-1 との関連性について検討した。この研究は、埼玉医科大学倫理委員会の承認を得て実施した。

4. 研究成果

WT は新生児期高濃度酸素暴露により、mean linear intercept 増加および二次中隔数減少を示し (肺胞発達遅延) これは日齢 14 まで続いた (図 1、2)。一方、高濃度酸素暴露された TRX-Tg では日齢 4、14 共に WT と比較してこれら肺胞発達の遅延を抑制した。また、日齢 14 において WT に比し TRX-Tg では炎症性マーカーである IL-6、MCP-1、CXCL2 の肺内 mRNA 発現が有意に減少し (図 3) マクロファージの遊走を阻害した (図 4)。また、血清 TRX-1 値は非 CLD 群と比較して、CLD 群で出生時に有意に低値であった。我々は今回の研究で TRX が新生児マウスの高濃度酸素性肺障害に対しても防御効果があることを示した (図 5)。その防御効果の一因は、TRX が炎症性マーカーである IL-6、MCP-1、CXCL2 の肺内 mRNA 発現を有意に減少させ、マクロファージの遊走を阻害するためと考えられた。さらに、早産児の血清 TRX-1 値は非 CLD 群と比較して、CLD 群で出生時に有意に低値であったことより、出生時に血清 TRX-1 値が高値であると CLD のリスクが低下する可能性が示唆された。

hTRXは高濃度酸素による肺胞発達遅延を抑制した (日齢 4)

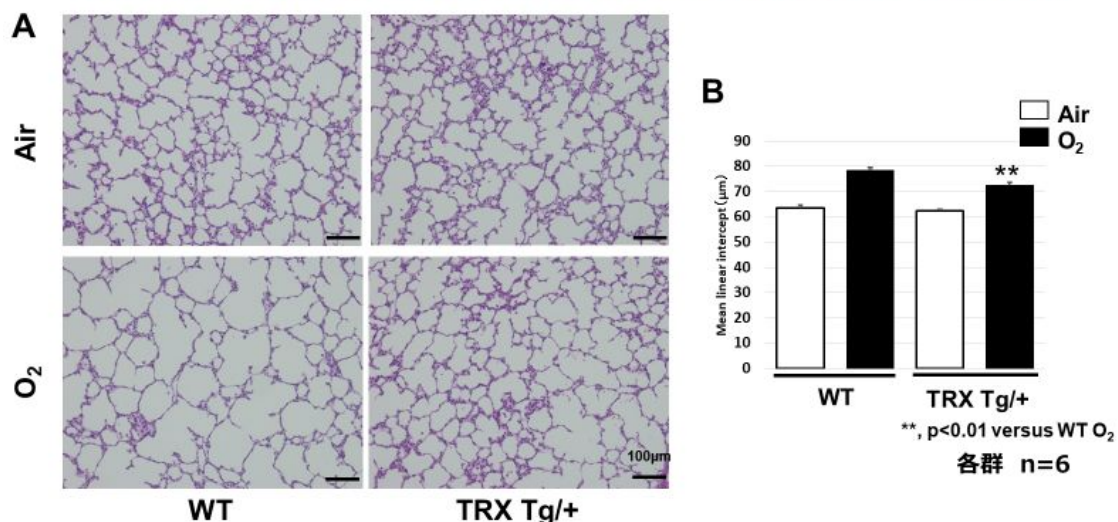


図 1: 日齢 4 の肺病理組織 (HE 染色)

hTRXは高濃度酸素による肺胞発達遅延を抑制した（日齢14）

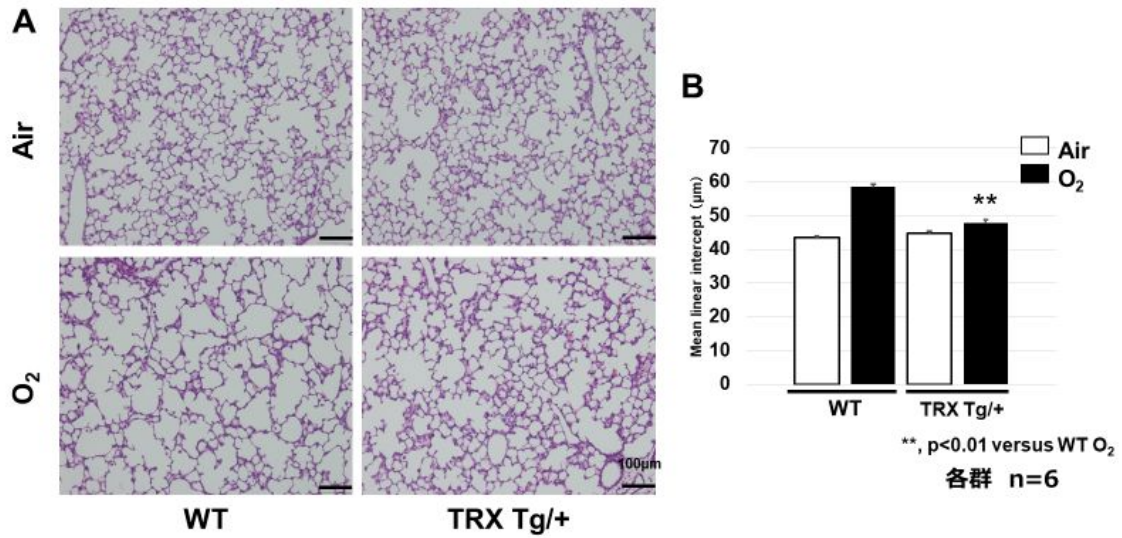


図 2: 日齢 14 の肺病理組織 (HE 染色)

hTRXは高濃度酸素による回復期の肺内炎症性サイトカイン mRNA 発現上昇を抑制した（日齢14）

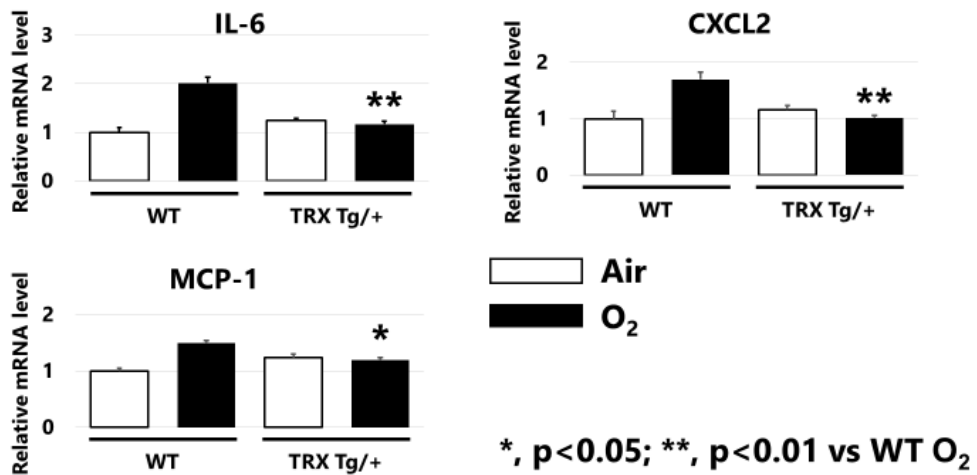


図 3: 日齢 14 の肺内炎症性サイトカイン mRNA の比較

hTRXは高濃度酸素による肺マクロファージ遊走を抑制した（日齢14）

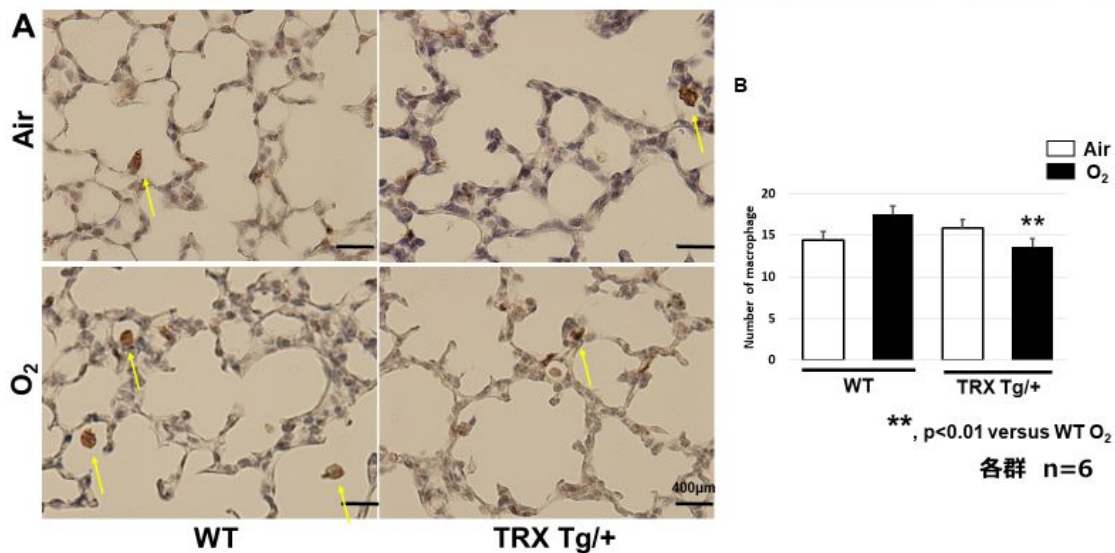


図4：日齢14の免疫染色（マクロファージ）

hTRX-1はCre補正を行うとCLD36群で日齢0で低かった。

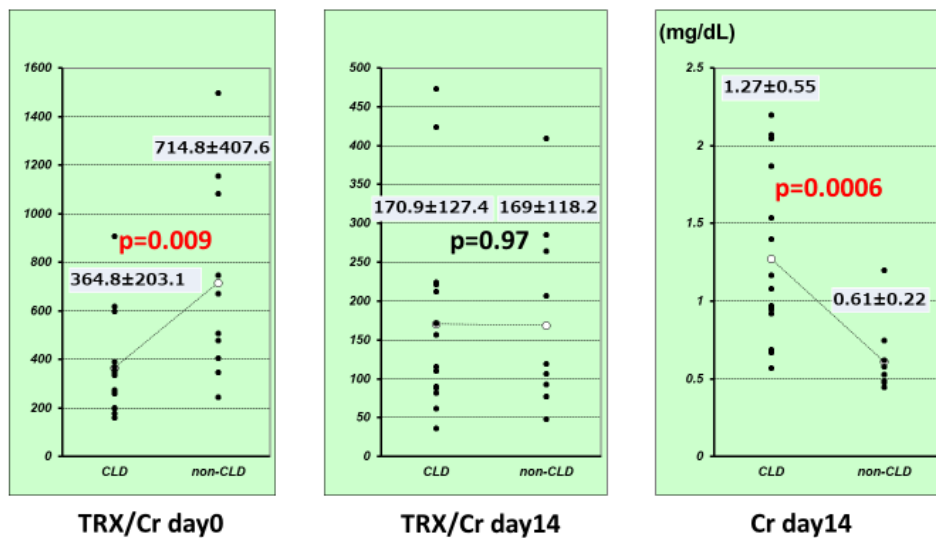


図5：早産児25名の出生時と日齢14の血清TRX-1値

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nagano N, Tanaka K, Ozawa J, Watanabe T, Miyake F, Matsumura S, Osada K, Matsuoka K, Tamura M, Namba F	4. 巻 8
2. 論文標題 Attenuation of Hyperoxic Lung Injury in Newborn Thioredoxin-1-Overexpressing Mice through the Suppression of Proinflammatory Cytokine mRNA Expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 1 13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomedicines8030066	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Nobuhiko Nagano, Kousuke Tanaka, Kikumi Matsuoka, Yukio Arai2 Takaaki Watanabe2, Fuyu Miyake, Shun Matsumura, Masanori Tamura, Fumihiko Namba
2. 発表標題 Human thioredoxin-1 enhances recovery from hyperoxic lung injury in newborn mice through the inhibition of proinflammatory cytokine gene expression
3. 学会等名 米国小児科学会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長野伸彦、田中広輔、松岡菊美、田村正徳、難波文彦
2. 発表標題 新生児慢性肺疾患における細胞内抗酸化物質チオレドキシンの重要性
3. 学会等名 新生児慢性肺疾患研究会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----