

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K15944

研究課題名（和文）CTEPH血管リモデリングの病態解明から新規治療へ；血管内皮細胞に着眼して

研究課題名（英文）Elucidation of vascular remodeling in CTEPH, focusing on vascular endothelial cells

研究代表者

須田 理香（Suda, Rika）

千葉大学・真菌医学研究センター・特任助教

研究者番号：90779795

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：肺動脈内膜摘除術で摘出した肺動脈内膜と器質化血栓を含む検体から単離した血管内皮細胞の増殖能が高く、テロメラーゼの構成要素であるTERTの発現が確認され、血管内皮細胞が血管リモデリングの細胞増殖を引き起こしていることが示唆された。また、増殖細胞中にCD31陽性CD45陽性細胞が認められ、骨髓由来の細胞の関与も示唆された。

一方で、CTEPH患者の末梢血のテロメア短縮と血行動態の重症度には有意な相関はなく、肺高血圧症を伴わないCTEDとCTEPHとの比較でもテロメア長に差はなかった。CTEPHでは肺動脈リモデリングにテロメア短縮や、老化細胞からの増殖因子様物質が関連していないと推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CTEPHでは治療の進歩にも関わらず依然治療抵抗例が存在し、治療抵抗例の主病態と考えられる肺動脈のリモデリングを標的とした新規治療の開発が国際的に望まれている。本研究は、肺動脈リモデリングの病態解明に関する検討であり、リモデリング抑制をターゲットとした治療法の開発の一助となると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Isolated vascular endothelial cells obtained from specimens including pulmonary artery intima and organized thrombi from pulmonary endarterectomy showed high proliferative capacity. Expression of TERT, a component of telomerase, was confirmed in these vascular endothelial cells, suggesting that vascular endothelial cells are involved in vascular remodeling. Additionally, proliferating cells exhibited CD31-positive CD45-positive characteristics, indicating the involvement of bone marrow-derived cells in vascular remodeling.

On the other hand, there was no significant correlation between telomere shortening in peripheral blood and the severity of hemodynamic impairment in CTEPH patients, and there was no difference in telomere length when comparing chronic thromboembolic disease without pulmonary hypertension to CTEPH. It is suggested that telomere shortening and growth factor-like substances from senescent cells do not play a role in pulmonary artery remodeling in CTEPH.

研究分野：肺高血圧

キーワード：慢性血栓塞栓性肺高血圧症 血管内皮細胞

## 1. 研究開始当初の背景

慢性血栓塞栓性肺高血圧症（以下 CTEPH）の根治術は血栓内膜摘除術であるが、非手術例や術後残存肺高血圧症例は肺血管拡張薬による内科治療の対象となる。しかし、効果が不十分な症例が存在し、治療抵抗例の主病態である肺動脈リモデリングをターゲットとした治療薬の開発が喫緊の課題である。

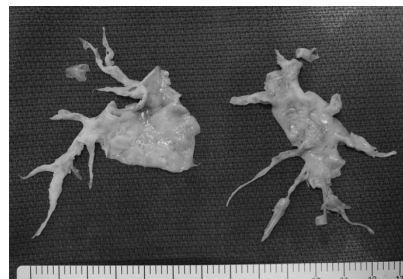


図 1 血栓内膜摘除術の摘出検体

肺動脈リモデリングは当初、筋線維芽細胞・線維芽細胞・平滑筋細胞等の間葉系細胞の中膜での増殖が主体と考えられていた。しかし、本研究の予備実験では、CTEPH の肺動脈内膜を含む摘出検体(図 1)から単離した CD31 陽性の血管内皮細胞は、非常に

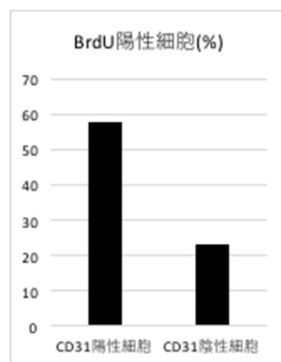


図 2 CD31陽性/陰性細胞の細胞増殖能

高い細胞増殖能を示した(図 2)。一方で、従来リモデリングの主要構成細胞とされてきた間葉系細胞を含む CD31 陰性細胞の増殖能は低下していた(図 2)。また、血管内皮細胞が間葉系細胞へ形質転換する内皮間葉転換も高頻度に認められ、従来の間葉系細胞の増殖は内皮間葉転換した内皮細胞の増殖の結果であると示唆された。内皮細胞がない状況での間葉系細胞の増殖能低下からは、内皮細胞を中心とした細胞間ネットワークがリモデリングの細胞増殖を促進する可能性が考えられる。更に内皮以外の細胞から内皮細胞の出現が確認され、間葉内皮転換または前駆細胞や幹細胞性を持つ細胞群からの分化など細胞の流動的な動きがリモデリングに関与していることも推測された。

また、肺動脈性肺高血圧症（以下 PAH）では、内皮細胞のアポトーシスとそれに引き続くアポトーシス抵抗性細胞の増殖により肺動脈リモデリングが起こることを研究協力者である坂尾らが報告した（FASEB J. 2005;19:1178）。この PAH の血管リモデリングにおける細胞増殖に、腫瘍性増殖と同様のテロメラーゼの活性上昇が関与していることが報告された。本研究の予備実験では、CTEPH 摘出検体から抽出した増殖能の高い内皮細胞に、通常はがん細胞や幹細胞で認められるテロメラーゼ構成要素の TERT が発現していた。CTEPH の内皮細胞のアポトーシスに血流ストレスによるテロメア長の短縮が、その後の血管リモデリングの細胞増殖にもテロメラーゼ上昇が関与していると推測された。

## 2. 研究の目的

本研究は、CTEPH 治療抵抗性の主病態である肺動脈リモデリングの細胞増殖を下記 2 点に着目して解明することにより、未だ確立されていないリモデリング抑制をターゲットとした治療法の開発へ臨床応用し、治療抵抗例の予後改善を目指すものである。

A. 増殖細胞の主な起源の解明

B. 血管内皮細胞とテロメア短縮、テロメラーゼ活性に着目した細胞増殖の機序

### 3．研究の方法

肺動脈内膜摘除術により摘出された肺動脈内膜と器質化血栓を含む検体を、溶血・酵素処理により細胞分散し、CD31(内皮細胞マーカー)やCD45(血球系細胞マーカー)の発現により構成細胞群を識別する。磁気ビーズを用いて、CD31陽性の肺血管内皮細胞と、CD31陰性の線維芽細胞・筋線維芽細胞等の間葉系細胞を単離培養した。フローサイトメトリーを用いて、単離した細胞群が発現する細胞マーカー・増殖能(BrdU陽性率)・アポトーシスの割合(Hoechst)を解析した。

また、CTEPH患者の末梢血のDNAを抽出し、rt-PCRでテロメア長を測定した。さらに、テロメア長と患者臨床情報(生存期間、肺動脈圧、肺血管抵抗など)CTEPH摘出検体の細胞増殖能との関係を検討した。

### 4．研究成果

動脈内膜摘除術により摘出された肺動脈内膜と器質化血栓を含む検体から単離した血管内皮細胞の増殖能が高いことに反して、間葉系細胞は細胞増殖能が著明に低下していた。増殖した血管内皮細胞においてテロメラーゼの構成要素であるTERTの発現が確認された。これらの結果より血管内皮細胞が血管リモデリングの細胞増殖を引き起こしていることが示唆された。また、増殖細胞中にCD31陽性CD45陽性細胞が認められ、骨髄由来の細胞の関与も示唆された。

一方、末梢血のテロメア短縮とCTEPHの血行動態の重症度には有意な相関は認められず、肺高血圧症を伴わない慢性肺血栓塞栓症例とCTEPHとの比較においても、テロメア長に差は認めなかった。この結果からは、CTEPHにおいてはCOPD-PHで報告された肺動脈リモデリングとテロメア短縮や、老化細胞からの増殖因子様物質とは関連ないことが推測された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------