

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16523

研究課題名(和文) 腸間膜リンパ液miRNAを介した出血性ショック後肺障害の分子生物学的研究

研究課題名(英文) molecular biological mechanisms of lung injury induced by post-hemorrhagic shock mesenteric lymph

研究代表者

倉橋 和嘉子 (Kurahashi, Wakako)

日本医科大学・大学院医学研究科・研究生

研究者番号：80792944

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)：出血性ショック後の肺障害の発生におけるmicroRNAの役割の解明を目的とし、ショック蘇生後と正常時の腸間膜リンパ液miRNA、肺組織miRNAを380種類測定した。リンパ液では156種類が両方で発現を認め、正常時により多く発現を認めた。肺組織では157種類が両時に発現を認め、ショック蘇生時により多く発現を認めた。

リンパ液、肺組織両方でショック蘇生時には発現せず、正常時のみ発現を認めたmiRNAが存在したが役割の同定には至っていないため、今後の課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で腸間膜リンパ液、肺組織双方で発現量に有意な差を認めたmiRNAやショック蘇生時には認めず、正常時に出現したmiRNAは出血性ショック時の腸管虚血により、腸間膜リンパ液を介しての肺障害の発生機序の解明の一端を担うと考えられる。しかし、今回はそのmiRNAの役割の同定には至らなかったため、今後の研究課題となった。

研究成果の概要(英文)：A possible role of mesenteric lymphatic microRNAs was examined in the development of lung injury after hemorrhagic shock.

Among 380 kinds of rat miRNA probed in array cards, 156 miRNAs were detected in mesenteric lymph both before shock (control) and after shock resuscitation. Comparison of miRNA expression profiles between lymph after shock resuscitation and control, larger amount of miRNAs were expressed in lymph before shock than in that after shock resuscitation. 157 miRNAs were detected in lung tissue both before shock and after shock resuscitation. Comparison of miRNA expression profiles between lung tissue after shock resuscitation and control, larger amount of miRNAs were expressed in lung tissue before shock than in that after shock resuscitation. A miRNA was exclusively detected in both lymph and lung tissue before shock.

研究分野：critical care

キーワード：lung injury mesenteric lymph miRNA hemorrhagic shock rats

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

外傷診療において、病院前診療、外傷初期治療などの超急性期診療は目覚ましい進歩を遂げてきたにも関わらず、亜急性期である出血性ショック蘇生後に生じる肺障害をはじめとする多臓器不全の死亡率は依然高いままであり、その発生機序は未だ解明されていない。

これまでの研究で、出血性ショック後に虚血腸管から産生され、肺・体循環へと流れ込むショック後腸間膜リンパ液は、好中球の活性化および血管内皮細胞の透過性を亢進する生理活性を有し、肺障害を起こすこと(Gonzalez RJ et al, 2001)、腸間膜リンパ液に何らかの原因物質が放出されていることが分かり、それらの一因として複数の蛋白・脂質メディエーターが報告されている(Naziri W et al, 1995, Papia G et al, 2011)。しかしこれらの因子が遠隔臓器に障害を与えるには、生理活性を保ったまま運ばれる必要があるが、いずれも不安定であり、いかに遠隔臓器まで運ばれるのかの説明には至っていなかった。

そこで miRNA に着目した。miRNA は 22 塩基程度のタンパクに翻訳されない noncoding RNA であり、標的 mRNA の 3' UTR に結合することにより、mRNA の翻訳の阻害と切断という 2 つのプロセスで標的になる複数の遺伝子を制御する(Bartel DP et al, 2009)。miRNA は特定の mRNA に作用してある現象に抑制的に働くこともあれば、ある現象に抑制的に働く mRNA に作用して、その現象を促進することもある。miRNA は普通細胞内に存在するが、exosome などの運搬体を介して遠隔臓器の細胞まで安定して移動することが可能であり、レシピエントの遠隔臓器細胞内でも機能を発揮できる(Camussi G et al, 2010)。あらゆる体液に存在することが報告されているが腸間膜リンパ液 miRNA に関する知見が全く存在しなかったため、申請者らは先行研究において正常ラット(非ショック)の腸間膜リンパ液内に miRNA は豊富に存在すること、miRNA が exosome を介してリンパ液内を移動し、遠隔臓器の細胞に取り込まれること(Sakamoto W et al, 2017)を報告した。しかしこれまでショック後の腸間膜リンパ液に含まれる miRNA について研究は行われていない。そこで申請者は出血性ショック後の肺障害の発生には miRNA が関与していると仮説をたてた。

## 2. 研究の目的

「腸間膜リンパ液 miRNA が出血性ショック後の肺障害発生に関与すること」を明らかにするため、出血性ショック前後で変化し、肺障害を引き起こす機能を持つ腸間膜リンパ液中の miRNA を同定することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究の動物実験については、日本医科大学動物実験委員会の承認を得て行った。

出血性ショックモデル：male SD rat を大腿動脈からの脱血により平均動脈圧を 30mmH<sub>2</sub>O まで降圧し 45 分間維持する。ショック完了後脱血した血液+2 倍量の生食を 2 時間かけて輸液し蘇生する。その 2 時間経過後をショック蘇生後とした。

腸間膜リンパ液、肺組織の採取：腸間膜リンパ管にカニューレションし、経時的にリンパ液を採取する。脱血前、蘇生 2 時間後のリンパ液を miRNA 測定に使用する。肺組織での miRNA の変化を検証するため、リンパ管カニューレションしていないショックモデルを用いて、肺組織をショック蘇生 2 時間後で採取する。コントロールに脱血を施行せず、ショック状態にしない正常ラットの肺組織を採取する。

miRNA のプロファイリング：リンパ液、肺組織の miRNA を TaqMan micro Array®を用いてマイク

ロアレイで解析した。

#### 4．研究成果

ショック蘇生後と正常時の腸間膜リンパ液 miRNA を 380 種類測定した。このうち両方に発現を認められたものは 156 種類で正常時の方が多く発現を認められたものが 139 種類、ショック蘇生時の方が多く発現を認められたものが 17 種類であった。正常時のみ発現を認められたものは 13 種類、ショック蘇生時のみ発現を認められたものは 4 種類あった。

ショック蘇生後と正常時の肺組織 miRNA も同様に 380 種類測定した。このうち両方に発現を認められたものは 157 種類で正常時の方が多く発現を認められたものが 43 種類、ショック蘇生時の方が多く発現を認められたものが 114 種類であった。正常時のみ発現を認められたものは 4 種類、ショック蘇生時のみ発現を認められたものは 3 種類あった。

このうち miR-542-3p のみ腸間膜リンパ液、肺組織双方で正常時のみ発現を認めた。この miR の役割の同定には至っていないため、今後の課題である。

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
---------	---------