

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591202

研究課題名（和文）原因遺伝子と酸化ストレスから見た肺高血圧の分子基盤：遺伝子改変マウスを用いた検討

研究課題名（英文）Molecular basis of pulmonary hypertension using mice deficient in a causative gene and an oxidant stress-related gene.

研究代表者 三谷 義英（Yoshihide Mitani）

三重大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60273380

研究成果の概要：小児期難病である肺高血圧の病態の為に、遺伝素因と環境因子に関する酸化ストレスに着目し、それぞれの遺伝子改変マウスを用いて新しい動物モデルを作成した。各々単独の遺伝子欠損マウスでは、慢性低酸素刺激による肺高血圧を増悪しなかったが、両者の遺伝子欠損マウスでは、慢性低酸素暴露による肺高血圧を増悪した。この事は、酸化ストレスを介する機序が遺伝性肺高血圧発症に重要性を示唆し、新たな治療標的を提示する。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：肺高血圧、原因遺伝子、酸化ストレス、動物モデル

1. 研究開始当初の背景

(1) 原発性肺高血圧の原因遺伝子の一つが骨形成蛋白受容体2型(BMPR2)の異常である。
 (2) しかし、遺伝子異常保因者の10-20%しか肺高血圧を発症せず、何等かの環境因子の関与が想定される。
 (3) 肺高血圧の発症に、種々の炎症刺激、酸化ストレスの関与が示唆される。
 (4) 最近、種々の抗酸化ストレス蛋白発現を統合的制御する転写因子 Nrf2 が発見され、その遺伝子欠損マウスにより、種々の疾患で酸化ストレスの増悪の疾患への関与が示唆される。

2. 研究の目的

肺高血圧原因遺伝子(BMPR2)遺伝子欠損と抗酸化ストレス蛋白(Nrf2)欠損マウスのダブル欠損マウスで、従来用いられる慢性低酸素暴露による肺高血圧が増悪するか否かとその機序を検討した。

3. 研究の方法

(1) ダブルノックアウトマウスの作成
 (2) 慢性低酸素暴露マウスの作成
 (3) 肺高血圧の評価：右室圧測定、右室/左室重量比、肺血管の定量計測
 (4) 摘出肺の免疫染色：8-oxo-dG 抗体、BMP-2 抗体、BMPR1 抗体、BMPR2 抗体、NFκB 核発現、VCAM1、マクロファージ数

(5)RT-PCR, Western blot: ①抗酸化蛋白、② BMP-2, BMPR1, BMPR2, Id3mRNA、③ Smad1/5、p38, ERK のリン酸化

4. 研究成果

(1)BMPR2(+/-)ないし Nrf2(-/-)単独では慢性低酸素暴露マウスの収縮期右室圧、右室/左室重量比、定量計測による肺血管病変を増悪せず、ダブル欠損マウスでは増悪した。

(2)肺高血圧の悪化したマウスでは、マクロファージなど炎症細胞浸潤、VCAM1、核内NF- κ B、サイトカインなど炎症関連因子の発現が増悪し、BMP, BMPR2, Id3 発現がさらに低下した。

(3)ダブルノックアウトマウスの肺高血圧増悪機序として、BMP 系と炎症系の相互作用が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 16 件)

① Mitani Y(1), Ohashi H(2), Maruyama K(7), Shimpo H(8), 計 9 名 (査読あり)

In Vivo Plaque Composition and Morphology in Coronary Artery Lesions in The Adolescents and Young Adults Long After Kawasaki Disease: A Virtual Histology-Intravascular Ultrasound Study
Circulation (2009, in press)

② Yokoyama K(1), Mitani Y(4), Shimpo H(7). 計 7 名 (査読あり)

Removal of prostaglandin E2 and increased intraoperative blood pressure during modified ultrafiltration in pediatric cardiac surgery.

J Thorac Cardiovasc Surg.

2009 Mar;137(3):730-5.

③ Mitani Y(1), Shimpo H(5), Maruyama K(9). 計 9 名 (査読あり)

Atrial natriuretic peptide gene transfection with a novel envelope vector system ameliorates pulmonary hypertension in rats.

J Thorac Cardiovasc Surg.

2008 Jul;136(1):142-9.

④ Iwasa T(1), Mitani Y(2), Shimpo H(5). 計 7 名 (査読あり)

A persistent infiltrated lung shadow in an infant: A rare association of congenital pulmonary venous obstruction with partial anomalous pulmonary venous connection and ventricular septal

defect.

Ped Int 2008 Jun;50(3):397-9.

⑤ Takabayashi S(1), Mitani Y(2), Shimpo H(4). 計 4 名 (査読あり)

Pulmonary artery growth after Norwood and bidirectional Glenn procedure

Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2008 Apr;7(2):328-30.

⑥ Kamada N(1), Mitani Y(2), Shimpo H(10), . 計 11 名 (査読あり)

Fatal pulmonary lymphangiectasia manifesting after repeated surgeries for intractable chylopericardium and chylothorax in a 20-month-old girl.

Circulation. 2008;117:1894-1896.

⑦ Takabayashi S(1), Ohashi H(4), Mitani Y(4), Shimpo H(5). 計 5 名 (査読あり)

Suture repair of pectus excavatum at the time of cardiac surgery on an infant

Ann Thorac Surg. 2008 Feb;85(2):651-3.

⑧ 三谷義英, (査読なし)

特集：小児疾患診療のための病態生理-原発性肺高血圧 (総説)

東京医学社、小児内科、40, 350-356, 2008.

⑨ 三谷義英, (査読なし)

特集：肺動脈性肺高血圧-スクリーニング検査 (総説)

日本臨床社、日本臨床、66(11), 2102-21-6, 2008.

⑩ 三谷義英, (査読なし)

肺高血圧症の発症機序-overview (総説)

先端医学社、分子心血管病、9(4), 339-346, 2008

⑪ Sawada H(1), Mitani Y(2), Shimpo H(8), Maruyama K(10). 計 11 名 (査読あり)

A nuclear factor- κ B inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate ameliorates pulmonary hypertension in rats.

Chest 2007;132(4):1265-1274.

⑫ Jiang BH(1), Mitani Y(4), Maruyama K(5). 計 5 名 (査読あり)

A Novel Inhibitor of Inducible Nitric Oxide Synthase, ONO-1714, Does Not Ameliorate Hypoxia-induced Pulmonary Hypertension in Rats.

Lung. 2007 Sep-Oct;185(5):303-8.

⑬ Takabayashi S(1), Shimpo H(2), Mitani Y(5). 計 5 名 (査読あり)

Reduced regional right ventricular wall motion after transventricular repair of

tetralogy of Fallot.
J Thorac Cardiovasc Surg. 2007
Jun;133(6):1656-8.

⑭ Mitani Y(1), Ohashi H(4), Maruyama K(8),
Shimpo H(9), 計10名 (査読あり)

Fate of the 'opened' arterial duct:
Lessons learned from bilateral pulmonary
artery banding for hypoplastic left heart
syndrome under the continuous infusion of
prostaglandin E1.

J Thorac Cardiovasc Surg. 2007
Jun;133(6):1653-4.

⑮ Sawada H(1), Mitani Y(2), Shimpo H(7),
Maruyama K(8). 計9名 (査読あり)

Reversal of increased pulmonary arterial
pressure associated with systemic venous
collaterals after tonsillectomy in a
Fontan candidate after Glenn procedure:
Impact of obstructive sleep apnea on
Fontan circulation.

J Thorac Cardiovasc Surg. 2007
May;133(5):1371-3.

⑯ Takabayashi S(1), Shimpo H(2), Mitani
Y(5). 計5名 (査読あり)

Palliative management of a
low-birth-weight infant with congenitally
corrected transposition of the great arteries,
severe restrictive foramen ovale,
hypoplasia of the morphologically right
ventricle, ventricular septal defect, and
steno-insufficiency of the tricuspid
valve. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 2007
Apr;55(4):163-6.

[学会発表] (計10件)

① Kato T(1), Shimpo H(9), Maruyama K(10),
Mitani Y(12). 計12名

Bosentan Promotes Incorporation of Bone
Marrow-Derived Endothelial Progenitor
Cells but Inhibits Infiltration of
Macrophages into Pulmonary Vascular
Lesions in Mice Exposed to Chronic
Hypoxia: A New Mechanism of Bosentan in
Inhibiting Pulmonary Hypertension
Japanese Circulation Society 2009. 3. 22 (大
阪)

② Kato T(1), Shimpo H(8), Maruyama K(9),
Mitani Y(11). 計11名

Chronic hypoxia increases bone
marrow-derived endothelial cells of
non-hematopoietic stem cell origin, as
well as macrophages of hematopoietic stem
cell origin, in pulmonary vascular lesions

in mice: differential roles of bone
marrow-derived hematopoietic and
non-hematopoietic stem cells in pulmonary
hypertension

American Heart Association, New
Orleans, US 2008. 11. 10

③ Mitani Y(1), Ohashi H(2), 計5名
Necrotic Core and Dense Calcium, not
Fibrous, Components contribute to an
Increased Plaque Burden Associated with
Localized Stenosis in Patients Long after
Kawasaki Disease: Quantitative Gray
Scale-andVirtual Histology-Intravascular
UltrasoundStudy

American Heart Association, New Orleans,
US, 2008. 11. 10

④ 三谷義英、
State of Art: Therapeutic advances in
pulmonary hypertension 2008

第44回日本小児循環器学会総会 (郡山、
2008. 7. 2)

⑤ 三谷義英
肺高血圧-最近の考え方と治療

第2回成人先天性心疾患セミナー (東京、
2008. 6. 21)

⑥ 加藤太一(1), 三谷義英(2), 丸山一男(8),
新保秀人(9), 計10名

マウス肺高血圧性血管病変における骨髄幹
細胞の関与: 間葉系幹細胞と血球系幹細胞の
役割

第44回日本小児循環器学会総会. 2008. 7. 2,
郡山市

⑦ 加藤太一(1), 三谷義英(2), 丸山一男(8),
新保秀人(9), 計10名

ボセンタンの新たな肺高血圧抑制機序: 骨髄
移植肺高血圧マウスを用いた骨髄由来細胞
動態への影響

第44回日本小児循環器学会総会. 2008. 7. 2
郡山市。

⑧ 三谷義英(1), 大橋啓之(2), 新保秀人(6),
計7名

先天性心疾患の治療計画における
Sildenafilの有用性 (第2報)

: non-PH群での中期成績

第44回日本小児循環器学会総会. 2008. 7. 2
郡山市

⑨ 大橋啓之(1), 三谷義英(2), 新保秀人(7),
計7名

Eisenmenger 症候群を除く肺血管病変を伴う
先天性心疾患に対するボセンタンの効果

第44回日本小児循環器学会総会. 2009. 7. 2,
郡山市

⑩ Mitani Y(1), Ohashi H(2), 計5名

In Vivo Plaque Composition and Morphology
in Coronary Artery Lesions in the
Adolescents and Young Adults Long after
Kawasaki Disease: Lessons Learned from
Virtual Histology- Intravascular
Ultrasound Study

American Heart Association, Orland, US,
2007.11.7

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三谷 義英 (Yoshihide Mitani)
三重大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：60273380

(2) 研究分担者

新保 秀人 (Hideto Shimpō)
三重大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：70179076

丸山 一男 (Kazuo Maruyama)
三重大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：20181828

(3) 連携研究者