

令和 6 年 6 月 22 日現在

機関番号：22701  
研究種目：基盤研究(C)（一般）  
研究期間：2019～2023  
課題番号：19K09422  
研究課題名（和文）肺動脈平滑筋細胞内シグナルに着目したARDSによる肺循環障害の新規治療標的の探索  
  
研究課題名（英文）Exploration of New Therapeutic Targets for Pulmonary Circulatory Dysfunction in ARDS  
  
研究代表者  
金丸 栄樹（KANEMARU, Eiki）  
  
横浜市立大学・附属病院・助教  
  
研究者番号：50793494  
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）：本研究では、モノクロタリン誘導性肺高血圧症モデルラットに対してLPS誘導性ARDSを引き起こすことで、ARDSにおける肺高血圧の病的意義を解析した。モノクロタリン誘導性肺高血圧ラットでは、LPS投与によって引き起こされる炎症反応の一部が減弱しており、組織傷害が増強することもなかった。以上から、炎症を伴う肺高血圧症患者では肺の免疫応答が減弱しており、炎症は弱くなる一方で、感染に対して脆弱となっている可能性が示唆された。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では肺高血圧症がARDSに与える影響について動物モデルを用いて研究を行い、炎症を伴う肺高血圧症モデル動物では、病原体によって引き起こされる炎症反応の一部が減弱していることを明らかにすることができた。本研究の成果から、肺高血圧症の患者さんが、肺炎などに対して脆弱であるメカニズムの解明につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyzed the effects of pre-existing pulmonary hypertension on ARDS using a monocrotaline-induced pulmonary hypertension model. In rats with monocrotaline-induced pulmonary hypertension, some of the inflammatory responses triggered by intratracheal LPS administration were attenuated, and tissue damage was not exacerbated. These findings suggest that in patients with pulmonary hypertension accompanied by inflammation, the immune response in the lungs may be weakened, leading to reduced inflammation but increased susceptibility to infections.

研究分野：集中治療医学

キーワード：ARDS 肺高血圧

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

急性呼吸促迫症候群 (Acute Respiratory Distress Syndrome: ARDS) は感染症や外傷に伴う強い炎症を背景に、肺組織が傷害され、重篤な呼吸不全を引き起こす疾患で死亡率は高い。今まで、ARDS の研究では肺泡構造の破綻によるガス交換不全に主眼がおかれてきた。しかしながら、ARDS ではガス交換の障害だけではなく、肺高血圧に代表される肺循環障害を合併する症例が多くあることが知られており、(Ryan et al. Ann Intensive Care 2014)、そのような症例では、陽圧換気が肺高血圧を増悪させるため管理に難渋することが多い。さらに、ARDS 患者を対象とした大規模 RCT の二次解析の結果、transpulmonary gradient (平均肺動脈圧-左房圧) 及び肺血管抵抗の増加が見られる患者の死亡率が高いことが明らかになっている (Bull et al. Am J Respir Crit Care Med 2010)。肺循環障害は ARDS の予後を改善するために解決しなくてはならない重要な課題である。しかしながら ARDS における肺循環障害がどのようなメカニズムで生じ、肺の組織傷害にどのような影響を与えるのかはわかっていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、モデル動物を用いて肺高血圧症が肺炎 ARDS の肺の炎症、組織傷害に与える影響について明らかにすることを目的として研究を行った。ラットに対してモノクロタリンを投与することで肺高血圧症とし、その後、LPS を気管内に投与し ARDS モデルを作成し、血行動態、肺の炎症および組織傷害について評価した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 動物モデル

ラットは非肺高血圧-コントロール群 (non-PH-Control 群)、非肺高血圧-ARDS 群 (non-PH-ARDS 群)、肺高血圧-コントロール群 (PH-Control 群)、肺高血圧-ARDS 群 (PH-ARDS 群) の 4 群に割り付けた。8 週齢のオスの Sprague-Dawley ラットを用いて、PH 群および PH-ARDS 群ではモノクロタリンを 50mg/kg 筋肉内注射し投与、Control 群および ARDS 群では、同量の Vehicle を投与した。モノクロタリン投与から 3 週間後に ARDS 群、PH-ARDS 群に対しては全身麻酔下にリポポリサッカライド (LPS) を気管内投与し、Control 群、PH 群は麻酔のみを施行、その翌日に下記のように血行動態測定、人工呼吸下の血液ガス測定、肺組織傷害・炎症評価のためのサンプリングの 3 つのシリーズの実験を行った。

#### (2) 血行動態測定

それぞれのグループのラットに対して、全身麻酔下に気管切開を行ったうえで、人工呼吸を行った。左頸動脈から動脈ラインを確保、右頸静脈より右室カテーテルを挿入し、リクルートメント手技後血行動態が安定したところで、1 分おきに 5 分間にわたり血行動態を記録した。

#### (3) 人工呼吸下の血液ガス測定

それぞれのグループのラットに対して、全身麻酔下に気管切開を行ったうえで、人工呼吸を行った。左頸動脈から動脈ラインを確保し、リクルートメント手技後 5 分後に、動脈血を採取し、動脈血液ガス分析を行った。

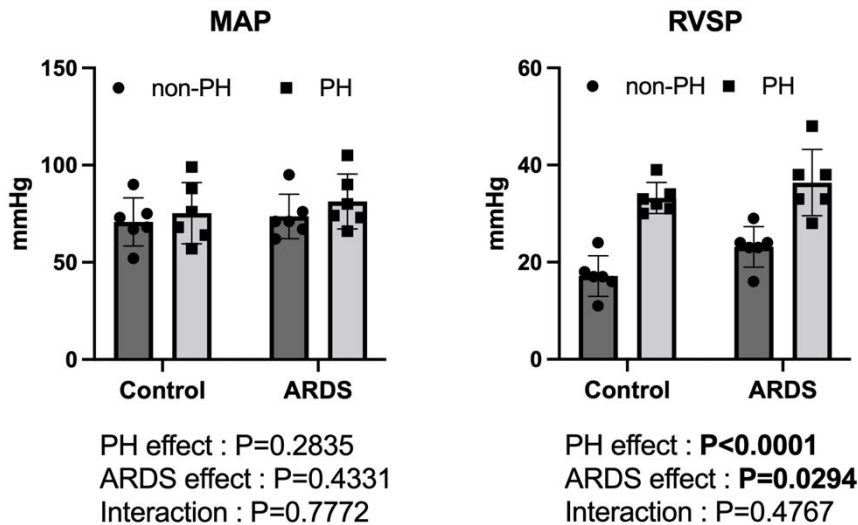
#### (4) 肺組織炎症・傷害の評価

それぞれのグループのラットをイソフルランで安楽死させた上で、気管支肺胞洗浄液 (Broncho-Alveolar Lavage Fluid: BALF) 肺組織を採取した。肺における炎症の評価としては、BALF 中の MPO、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-10、CXCL-1、CCL-2 濃度を測定するとともに、肺組織におけるこれらのサイトカイン/ケモカインの mRNA 発現量を測定した。肺組織傷害の評価としては BALF 中のタンパク濃度を測定するとともに sRAGE、ICAM-1 濃度を測定した。

### 4. 研究成果

#### (1) 血行動態の変化

モノクロタリン投与は顕著な右室圧の増加をもたらした。一方で、LPS による ARDS もわずかではあるものの、有意な右室圧の増加をもたらした。以上から、モノクロタリン投与により著名な肺高血圧症を合併した ARDS モデルを構築することが出来た。また、LPS 誘導性 ARDS は相加的に肺高血圧症を増悪させることが明らかとなった。以下、このモデルを用いて病態の解析を行った。



(2) 血液ガス分析

モノクロタリン投与による肺高血圧、LPS 投与による ARDS どちらも動脈血酸素分圧の低下をもたらした。

(3) 肺組織炎症

モノクロタリン投与による肺高血圧群では BALF 中の MPO、CXCL-1、CCL-2 の増加を認めた。一方で LPS 誘導性 ARDS は BALF 中の MPO および TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-10、CXCL-1、CCL-2 の著名な増加を認めた。肺高血圧のあるグループ間での比較を行うと、PH-Control 群に対して、PH-ARDS 群では MPO およびサイトカインが有意に増加していたが、ケモカインの増加は見られなかった。さらに、PH-ARDS 群と non-PH-ARDS 群では多くのサイトカイン、ケモカインについては明らかな違いは見られなかったが、抗炎症性サイトカインである IL-10 は PH-ARDS 群でむしろ増加していた。一方で、肺組織の mRNA 発現解析では、PH-ARDS 群では non-PH-ARDS 群と比較し、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 の発現量が低下していた。以上から、PH-ARDS では non-PH-ARDS と比較して、炎症の増強は見られず、むしろ低下する傾向が見られた。

(4) 肺組織傷害

モノクロタリン投与自体が肺の組織傷害を引き起こしており、BALF 中のタンパク濃度、sRAGE 濃度、ICAM-1 濃度が増加していた。一方で LPS 投与による ARDS においても同様に BALF 中のタンパク濃度、sRAGE 濃度、ICAM-1 濃度が増加していた。しかしながら、PH-ARDS 群では non-PH-ARDS、PH-Control 群と比較して、これらマーカーの増加は見られず、ARDS 発症前にモノクロタリン誘導性肺高血圧が存在することで、LPS による組織傷害の増強が生じないことが示唆された。

(5) 考察

本研究ではモノクロタリン誘導性肺高血圧モデルを用いて ARDS において肺高血圧症の存在が、病態にどのように寄与するか検討を行った。当初の仮説としては、肺高血圧が存在することで ARDS がより増悪すると考えていたが、実際には、肺高血圧症の動物では一部の炎症反応が減弱していた。この結果は、炎症の抑制という観点からは肺に保護的に働く可能性があるも一方で、免疫抑制によって感染に対する脆弱になっている可能性を示唆するものである。背景メカニズムとしては、モノクロタリン誘導性肺高血圧において、LPS 投与前から存在する炎症が、さらなる炎症の惹起を抑制した可能性がある。今後、本研究の結果をもとに、肺高血圧症における免疫抑制のメカニズムを探索していくことが、肺高血圧症の肺炎や感染性 ARDS の治療に結びつくことが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 安達 健雄, 東條 健太郎, 奥 真哉, 金丸 栄樹, 菅原 陽, 後藤 隆久
2. 発表標題 肺高血圧症がARDS病態に与える影響についての動物モデルを用いた実験的検討
3. 学会等名 第49回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2022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
研究分担者	菅原 陽 (SUGAWARA Yoh)  (00596413)	横浜市立大学・附属市民総合医療センター・助教  (22701)	
研究分担者	東條 健太郎 (TOJO Kentaro)  (80737552)	横浜市立大学・医学部・講師  (22701)	

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