

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：12501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22917

研究課題名(和文)塩化鉄誘導肺線維症モデルにおけるマクロファージ・中皮細胞を標的とした病態成立機構

研究課題名(英文) Mechanism of pathogenesis targeting macrophages and mesothelial cells in an iron chloride-induced pulmonary fibrosis model

研究代表者

見上 英樹(Mikami, Hideki)

千葉大学・大学院医学研究院・特任助教

研究者番号：90876898

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：肺動脈性肺高血圧症(PAH)の治療として、病態改善のために肺血管拡張療法が対照的に施行されている。しかし、肺高血圧症の発症/成立機序は明確になっておらず、新規治療戦略探索のためには、さらなる病態解析が必要である。PAH血管周囲には単核球由来マクロファージが浸潤している。単核球由来マクロファージの肺内への動員抑制はPAH病態を改善させると報告されており、PAH病態における骨髄単核球の関与が示唆される。PAH病態形成における骨髄単核球エクソソームの関与の可能性を探索を行うため、PAH疾患マウスを作成することから開始したが、疾患動物を作成する事が出来ず想定していた実験を遂行する事が出来なかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺動脈性肺高血圧症(PAH)の治療として、病態改善のために肺血管拡張療法が対照的に施行されている。しかし、肺高血圧症の発症/成立機序は明確になっておらず、新規治療戦略探索のためには、さらなる病態解析が必要である。PAH血管周囲には単核球由来マクロファージ・マスト細胞・樹状細胞といった様々な炎症性細胞が浸潤している。その中でも単核球由来マクロファージの肺内への動員抑制はPAH病態を改善させると報告されており、PAH病態における骨髄単核球の関与が示唆されており、その為PAHにおける骨髄単核球関与を解明する必要がある。

研究成果の概要(英文)：As a treatment for pulmonary arterial hypertension (PAH), pulmonary vasodilation therapy is performed in contrast to improve the condition. However, the onset / establishment mechanism of pulmonary hypertension has not been clarified, and further pathological analysis is required to search for new treatment strategies. Mononuclear cell-derived macrophages infiltrate around PAH blood vessels. Suppression of mobilization of mononuclear macrophages into the lung has been reported to improve PAH pathology, suggesting the involvement of bone marrow mononuclear cells in PAH pathology. In order to explore the possibility of involvement of bone marrow mononuclear exosomes in PAH pathogenesis, we started by creating PAH diseased mice, but we could not create diseased animals and carried out the expected experiment.

研究分野：肺高血圧証

キーワード：肺高血圧証 マクロファージ 単核球

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1)肺動脈性肺高血圧症(PAH)の治療として、病態改善のために肺血管拡張療法が対照的に施行されている。しかし、肺高血圧症の発症/成立機序は明確になっておらず、新規治療戦略探索のためには、さらなる病態解析が必要である。PAH 血管周囲には単核球由来マクロファージ・マスト細胞・樹状細胞といった様々な炎症性細胞が浸潤している。その中でも単核球由来マクロファージの肺内への動員抑制は PAH 病態を改善させると報告されており、PAH 病態における骨髄単核球の関与が示唆される。また近年では様々な疾患において、その疾患関連細胞から放出される異常エクソソームが病態形成・維持に関与していることが明らかになっている。これら既知の報告から、PAH 患者の骨髄単核球エクソソームは健常者とは異なっており、それが PAH 病態の形成・維持に関与しているのではないかと仮説をたてた。

2. 研究の目的

(1) PAH 病態形成における骨髄単核球エクソソームの関与の可能性を探索する。

3. 研究の方法

(1)野生型マウス：C57BL/6 マウス、PAH 疾患マウス：Sugen/hypoxia マウスをサンプル数は上記マウス群ごとに n=5 を目標とする。

(2)PAH 疾患マウスである Sugen/hypoxia マウスを作成する。

作成法としては、1 週間毎に Sugen5416 を皮下投与し、10% O₂ 濃度の低酸素チャンバーにて 4 週間飼育する。その後、右心カテーテルを用いて肺動脈圧上昇が観察されるか確認する。

(3)骨髄単核球濃度測定・単離

骨髄単核球濃度測定の後、Lympholyte-M を用いて骨髄単核球を単離する。

(4)骨髄単核球培養上清エクソソームの分離

(3)で単離された骨髄単核球を培養、超遠心分離法を用いて上清エクソソームを分離する。

(5)(4)で単離されたエクソソームのトランスクリプトーム解析(野生型マウスと疾患マウスでの比較)

野生型マウスと疾患マウスの骨髄単核球培養上清エクソソームのトランスクリプトーム解析結果を比較することで、骨髄単核球エクソソームの PAH 病態形成への関与について確かめる。

(6)PAH 疾患マウスへの野生型マウス由来骨髄単核球エクソソーム投与

PAH 疾患マウスに野生マウス由来骨髄単核球エクソソームを気管内投与、その後右心カテー

ルで右室収縮期圧(RVSP)、摘出肺の病理像で PAH 血管病変、摘出心臓で右室重量/左室+心室中隔重量比を調べ、非投与群と非投与群と比較する。

4 . 研究成果

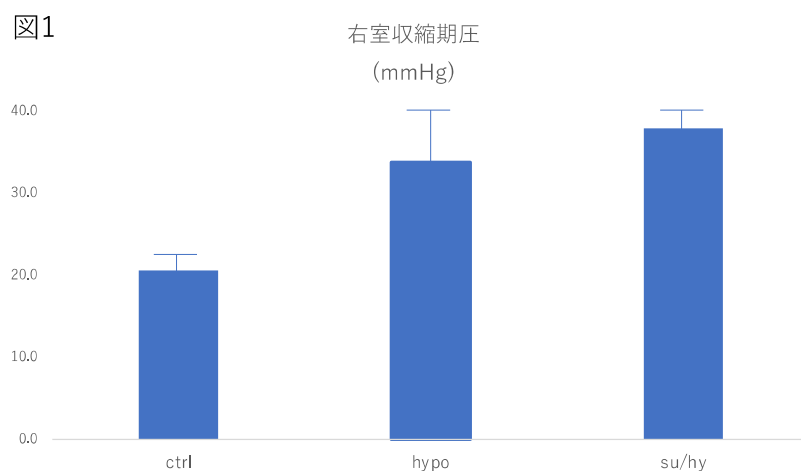
(1) PAH 疾患マウスである Sugen/hypoxia マウスを作成する。(n=5)

右心カテーテルにより測定の結果は Sugen/hypoxia マウス : 35.5 ± 3.0 mmHg、hypoxia マウス : 右室収縮期圧 41.8 ± 4.9 mmHg、ctrl : 右室収縮期圧 20.6 ± 2.4 mmHg となった(図 1)。

この後も、Sugen/hypoxia マウスの作成を継続したが、PAH 疾患マウスを作成する事が出来ず実験を進める事が出来なかった。

(2) 骨髄単核球濃度測定・単離

Lympholyte-M を用いて一匹のマウスから 1.33×10^7 cell/ml の骨髄単核球を単離できる事を確認できた。



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