

令和元年6月18日現在

機関番号：34104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09199

研究課題名(和文) 実験的肺高血圧における肺静脈血管の病態解析

研究課題名(英文) Pathological analysis of pulmonary veins in experimental pulmonary hypertension

研究代表者

丸山 淳子 (Maruyama, Junko)

鈴鹿医療科学大学・医用工学部・教授

研究者番号：50263017

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：従来より肺高血圧(PH)研究で頻用されてきた低圧低酸素性PHラットモデルおよびヒト肺動脈性肺高血圧(PAH)類似の血管閉塞性病変を呈するPAHラットモデルの発症過程における循環動態の変化と、肺動脈、肺静脈の血管病変、血管機能変化との関連を検討した。どちらのモデルも肺動脈の血管病変および血管機能変化と病態の進行は関連があることが推測されたが、肺静脈の血管病変については有意な関連はみとめられなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺高血圧症(PH)の病因は多く、その病態も様々である。現在までPHの病態は肺動脈の血管病変と機能変化を中心に解析が行われてきた。しかし、症例によっては同じ病因でも治療に対する効果が一定でないことが問題となっている。このことから私たちは肺静脈病変が治療効果や予後に関わっている可能性があると考えた。しかし、肺静脈に特定した組織病変を評価することは困難であったため、私たちは肺静脈の同定方法を考案し試行することにより肺静脈の病変と病態の進行との関連を検討した。現時点で検体数が限られているため、今後も継続する必要があると考えている。

研究成果の概要(英文)：We examined the correlation between the time course of the development of hemodynamic and the vascular changes in pulmonary arteries and veins in two types of rat model, chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension (PH), and Sugen 5416(VEGF receptor antagonist) combined with hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension (PAH) with vascular occlusive lesions. Vascular remodeling was mainly found in pulmonary arterial region, but rare in pulmonary vein region. In these two types of pathological animal model, the vascular lesion in pulmonary vein might not be significantly associated with the progression of the disease.

研究分野：医学

キーワード：肺静脈 血管病変 循環動態

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

肺高血圧症 (PH) 臨床分類においては、肺動脈性肺高血圧症 (PAH) というひとつの分類基準が確立されている。PAH の要因は多岐にわたり病態も様々で、治療効果や予後も違う。この原因として肺動脈病変のみならず肺静脈病変の存在が病態、治療成績や予後に関与している可能性が考えられる。PAH と診断され病態の主体は肺動脈であるとされていても肺静脈における病変については現在まであまり議論されることがなかった。また、肺動脈病変については病態解析が進んでいる一方で、肺静脈については解析が難しく、ほとんど行われていないのが現状である。

## 2. 研究の目的

今回私たちは、ヒト閉塞性血管病変を特徴とする PAH モデルを含む複数の PH ラットモデルを用いて肺動脈と肺静脈の同定を試行し、肺細動脈、肺静脈病変をそれぞれ形態的、機能的に解析し、肺静脈病変が PH の病態の変化に関連があるかどうかを検討する。

## 3. 研究の方法

病態モデル作成：7 週齢 SD 雄ラットを用いて、次の病態モデルを作成した。

(1) 低圧低酸素性 PH ラットモデル (hypo PH) - 低圧低酸素暴露 (1/2 大気圧、O<sub>2</sub> 10 %) チャンバーを用いて低酸素暴露群 7 日間 (day7)、14 日間 (day14)、21 日間 (day21) 飼育した。またコントロールとして大気圧飼育群を作成した。

(2) ヒト閉塞性血管病変を有する PAH ラットモデル (SUGEN/hypo PH) - SUGEN (VEGF 受容体チロシンキナーゼ阻害薬) 皮下投与後、3 週間低圧低酸素暴露 (1/2 大気圧、O<sub>2</sub> 10 %) 群 (H3WS)、低酸素暴露後 2 週間リカバリー群 (R2WS)、5 週間リカバリー群 (R5WS) を作成した。また、carboxymethyl cellulose (CMC) 投与後 3 週間低圧低酸素暴露群 (H3WC)、低酸素暴露後 2 週間リカバリー群 (R2WC)、5 週間リカバリー群 (R5WC) を作成した。また、CMC 投与後大気圧で 8 週間飼育したグループも作成した (N8WC)。

実験方法：それぞれのグループに対してベントバルビタールで腹腔内麻酔したのち、仰臥位で心エコーを施行後、右内頸動脈カテーテルと、右外頸静脈より肺動脈または右室までカテーテルを挿入して循環動態を評価した。人工呼吸器下に下大静脈脱血により安楽死させたのち肺循環を還流後、右室から順行性に、または左室から逆行性に温めたバリウムゼラチンを定常圧で注入して心肺一塊に取り出し、肺組織標本を作成して肺血管病変の評価を行った。また、SUGEN/hypo PH の R2WC、R5WC 以外の 5 グループについて、前述の各グループの別の個体の肺を用いて肺外肺動脈 (EPA) と肺内肺動脈 (IPA) の長さ 2 mm のリング状血管片を作成し、各種血管作動物質に対する等尺性張力変化から容量作用曲線を作成し、血管反応性の変化を評価した。摘出肺内肺静脈でも同様に試みた。

## 4. 研究成果

hypo PH では収縮期 (sPAP) および平均 (mPAP) 肺動脈圧が経時的に day14 まで上昇しそれ以降は安定した。右室肥大も同様であった。心エコー所見では右室流出路血流速度時間積分値 (VTI) はコントロール群と低酸素暴露群の発症過程の全ての群の間に有意差はみとめられなかった。右室流出路収縮期流速加速時間 / 右室駆出時間 (AcT/ET) は低酸素暴露早期 (day7, day14 群) でコントロール群と比較して有意な低下を示したが day21 ではコントロールとの違いはなかった。肺動脈では筋性肺動脈の中膜肥厚がみとめられた。sPAP 値 と肺動脈の %MWT 値 (Mitani Y J Thorac Cardiovasc Surg. 2008) との間に正の相関が認められた (相関係数: 0.48)。

一方、肺静脈の中膜肥厚は不明瞭なものが多く、sPAP 値と%MWT 値 との相関は認められなかった(相関係数： 0.11)。

SUGEN/hypo PHでは、肺血管病変については、肺動脈の中膜肥厚 (%MWT) と肺小動脈筋性化および閉塞性血管病変が H3WS 群より認められ、リカバリー群 (R2WS, R5WS) で増加傾向が認められたが、肺静脈ではどのグループでも中膜肥厚 (%MWT) および肺小静脈の筋性化などの顕著な組織変化は認められなかった。以上より、SUGEN/hypo PHラットモデルでは肺動脈中膜肥厚および血管閉塞性病変は循環動態変化との関連の可能性はあるが、肺静脈中膜肥厚および肺小静脈の血管病変などの肺静脈器質的病変については循環動態の変化との関連の可能性は低いと推測された。ただし逆行性バリウム注入の成功例が少ないため、今後さらに検体を増やして評価する必要があると考えられた。

血管反応性について、正常肺動脈 (N8WC 群) ではアセチルコリンに対して濃度依存性に弛緩反応がみとめられた。H3WC 群 (hypo PHと同等)、SUGEN/hypo PH (H3WS, R2WS, R5WS 群) では、いずれも低濃度では弛緩反応が認められたが高濃度では収縮反応がみられ、血管内皮細胞障害が観察された。これらのグループの間に経時的変化はみとめられなかった。PGF2 に対する収縮反応は正常肺動脈 (N8WC 群) と比較してH3WC 群、SUGEN/hypo PH (H3WS, R2WS, R5WS 群) 血管で有意に増強していた。また、H3WC 群よりH3WS, R2WS, R5WS 群の収縮反応の増強の傾向がみられた。Phenylephrine、endothelin-1に対する収縮には各群間に有意差は認められなかった。ふたつの病態モデルのPH 肺動脈ではどちらも血管収縮性が正常と比較して増強していたことから、血管平滑筋細胞の機能変化による収縮性亢進と血管内皮細胞機能障害による血管弛緩機能の障害が推測された。一方、摘出肺内肺静脈について肺動脈と同様に KCl溶液 70mM を用いて 0.25g～1.0g の間で等尺性張力変化を得るための至適静止張力の決定を試みたが、この範囲においては決定が困難であった。また、各種血管作動物質に対する張力変化が肺動脈と比較して小さく安定しないため、正常肺内肺静脈とPH 肺内肺静脈の血管作動物質に対する張力変化を比較することが困難であった。さらに正常肺血管と比較してPH肺血管では肺動脈、肺静脈ともに血管内皮剥離後のKClに対する血管収縮が著明に低下し、血管平滑筋に限定した血管反応性について検討することが困難であった。二つのPHモデルでの肺静脈リモデリングの解析および肺静脈機能変化の解析は今後も続けて行う必要があると考えている。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Zhang E, Maruyama J, Yokochi A, Mitani Y, Sawada H, Nishikawa M, Ma N, Maruyama K. Sarpogrelate hydrochloride, a serotonin 5HT2A receptor antagonist, ameliorates the development of chronic hypoxic pulmonary hypertension in rats. J Anesth. 2015 29(5):715-23.

〔学会発表〕(計 5 件)

丸山 淳子、張 尔泉、横地 歩、丸山 一男 血管閉塞性病変を有する重症肺高血圧動物モデルにおける肺血管機能変化、日本麻酔科学会第 6 6 回学術集会、2019

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：丸山 一男  
ローマ字氏名：MARUYAMA KAZUO  
所属研究機関名：三重大学  
部局名：医学系研究科  
職名：教授  
研究者番号(8桁): 20181828

(2)研究協力者

研究協力者氏名：張 尔泉  
ローマ字氏名：ZHANG ERQUAN

研究協力者氏名：岡田 アムポン  
ローマ字氏名：OKADA AMPHONE

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。