

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2009

課題番号：18591951

研究課題名（和文） 胎児横隔膜ヘルニアにおける肺血管のリモデリング解析と胎児治療モデルの作成

研究課題名（英文） The analysis of vascular growth factors and the prevention of the wall thickness in the lung artery of congenital diaphragmatic hernia model rat.

研究代表者

幸地 克憲（KOUCHI KATSUNORI）

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：40312938

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：小児外科・発生

キーワード：横隔膜ヘルニア、肺血管増殖因子、胎児治療、肺高血圧、Endothelin、肺血管抵抗

1. 研究計画の概要

胎児診断の普及と超音波診断技術の普及に伴い、横隔膜ヘルニア（以下 CDH）の胎児診断例は増加し、生直後より専門施設での intensive care が行われている。しかし、現状では胎児診断された CDH の予後は一般的に不良であり、胎児診断の恩恵を受けていない。この理由として胎児診断の CDH 予後不良例の肺は極めて未熟であり、肺低形成および血管平滑筋の肥厚による肺高血圧の 2 つの重篤な病態を伴っている。近年の分子生物学的研究により、肺血管の発生と remodeling の過程に関わる遺伝子：VEGF, angiopoietin, ephrin が解明され、肺血管形成の過程とこれに関わる遺伝子の発現が分かってきた。更に、肺血管トーンスを司る遺伝子として endothelin が関与していることが判明した。nitrofen 経口による胎児 CDH モデルラットを用い、胎児 CDH モデルにおける肺血管構築に関わる遺伝子：ephrin、肺血管トーンスをコントロールする遺伝子：endothelin の発現を解析する。更に各 antagonist を用いて、出生後の効果的な肺高血圧を予防し、新たな CDH 胎児治療が可能か検討を行う。

2. 研究の進捗状況

妊娠 SD ラットに nitrofen(NT)を経口投与し CDH を作製。胎生(GA)17、19、21 日に胎児肺組織を摘出。血管形成遺伝子：VEGF、angiopoietin-1,2、ephrinA1,B2、血管平滑筋増殖因子(PDGFb)及び各 receptor、ET1、ET1

receptor-A, B の発現量を対照群と RT PCR を用いて比較した。

CDH 群では対照群と比較し、GA21 で angiopoietin-1 の発現量が優位に低下していたが、VEGF、angiopoietin-2、ephrinA1,B2、PDGFb、各 receptor の発現量は各 GA で差を認めなかった。ET1 は GA21、ET1 receptor A, B は GA19,21 において CDH 群で優位に発現量の増加を認めた。この結果から CDH では胎児肺動脈壁肥厚に ET1 が大きく関与していることが考えられ、ET1 receptor A antagonist:PD156707(PD)を用いて肺動脈壁厚に及ぼす影響を以下の方法で検討した。妊娠ラットに NT 投与後、GA15～19 までそれぞれ PD50, 100mg/kg を経口投与(PD50 群、PD100 群)し、対照は生食のみ投与した。この他 NT を投与しない群を正常群とした。GA20 に肺組織を摘出後、肺動脈壁の肥厚と VEGF の発現量を比較した。肺血管壁の肥厚は、対照群に比べ PD50/100 群で優位に抑制された。VEGF の発現量も対照群、正常群に比べ PD50/100 群で優位に高値であった。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している

肺動脈壁肥厚に關与する遺伝子群の解析は終了しており、現段階では、ET antagonist による肺動脈壁肥厚抑制効果を検討中で、全研究の 80~90%の研究が終了し、予想以上に進展している。

4. 今後の研究の推進方策

CDH における肺動脈壁肥厚には ET1、ET receptor の発現量増加が大きく關与していると考えられ、antagonist 投与により優位に壁肥厚が抑制されていることが証明された。今後、他の ET antagonist による検討を行い、同様の肺動脈壁の肥厚抑制効果があるか検討する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 1件)

幸地克憲、吉田英生、菱木知郎、齋藤 武、
照井啓太 ラット横隔膜ヘルニアモデルを用いた血管形成の分子生物学的検討と Endothelin1 阻害薬による肺動脈壁肥厚の抑制 第 45 回日本小児外科学会総会
2008.5.12 茨城