

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：35302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07336

研究課題名(和文)リンパ管構成細胞の炎症応答能の獲得：炎症時のフェノタイプ変化

研究課題名(英文)Lymphatic vessels acquires inflammatory abilities

研究代表者

尾崎 博(Ozaki, Hiroshi)

岡山理科大学・獣医学部・教授

研究者番号：30134505

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)：本研究は、リンパ管を構築する内皮細胞、平滑筋細胞が高血圧時(慢性炎症)にどのように変化するかを明らかにすることを目的とした。結果、自然発症高血圧モデルラットの集合リンパ管において、アセチルコリンによる内皮依存性の弛緩反応は、正常ラットに比べて抑制されていること、この反応には活性酸素種の蓄積が原因となることを示した。応用研究として、SHRの血管を用いて、ストレプトコッカス由来の菌体毒素ストレプトリジン0が、PKCを介してeNOSの燐酸化を促進しeNOS活性を阻害して内皮機能を抑制することを見だし、菌体毒素が高血圧発症の要因となるという新たな循環病態機構の存在を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、リンパ管の機能が高血圧病態にどのように関わるかは明らかにされていない。本研究は、リンパ管内皮細胞の機能異常が高血圧モデルで見られることを示した最初のレポートである。一方、高血圧症で見られる腸内フローラなど常在細菌の乱れが生体に及ぼす影響は、未だ明らかにされていない。本研究は、高血圧で増加するStreptococcus属の菌体毒素が血管収縮障害を引き起こす可能性を示唆したもので、高血圧病態の解明に向けた端緒となる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to examine if impaired lymphatic function may contribute to the pathogenesis of increasing blood pressure. In SHR lymphatic vessels, we found that endothelial activity of lymphatic vessels is functionally impaired with the development of increasing blood pressure, which is mediated through increased oxidative stress via the p38 MAPK/NADPH oxidase 2 pathway. These results suggest that the impaired lymphatic endothelial function may contribute to the pathogenesis of hypertension (Hypertension 2020). We also found that Streptococcal streptolysin 0 causes vascular endothelial dysfunction and leads to increased blood pressure, which is mediated by PKCbeta-induced phosphorylation of the eNOS inhibitory site through TLR4 interaction. These results suggest that streptolysin 0/TLR4/PKCbeta signaling may be a novel risk factor for the development of hypertension (J Pharmacol Exp Ther 2021).

研究分野：薬理学

キーワード：リンパ管 血管 内皮細胞 平滑筋細胞 高血圧 炎症

1. 研究開始当初の背景

心血管系は「心臓」と「血管」から構成されるが、第三の構成要素として「リンパ管」が挙げられる。血管は血液量を制御する機能と血流を制御する機能を持ち、前者は血管コンプライアンスと呼ばれるが、コンプライアンスはリンパ管によっても形成されると考えるのが合理的である。脊椎動物において「リンパ系」とはリンパ液を運搬する導管ネットワークであり、様々な組織に密に分布している。そして、導管のところどころでリンパ組織の集合体であるリンパ節を形成する。血液の液性成分は組織（間質）に漏れ出し、組織液となってリンパ管に流れ込んで排液の役目を果たす。このリンパ系は時としてがん細胞の運搬を担い転移と呼ばれるプロセスを作り出すことから注目され多くの研究がなされている。しかし、循環系に果たす役割についての研究は意外に少ない。

本研究では、免疫機能において中心的役割を果たすリンパ系の特長から、「リンパ系を構築する細胞（内皮細胞、平滑筋細胞）は臓器内の局所で生じた異変を最初に感知し、そのシグナルを他所に伝える役目を果たしているのではないか」、そして同時に「リンパ管自身も変化して循環機能を調節しているのではないか」との仮説を立ててみた。

2. 研究の目的

現在、高血圧症は様々な免疫系細胞が関わる軽度の慢性炎症性疾患であると理解されている。本研究では、高血圧モデル動物を用いて、リンパ管構成細胞である内皮細胞と平滑筋細胞の機能変化を調べることを目的とした。

3. 研究の方法

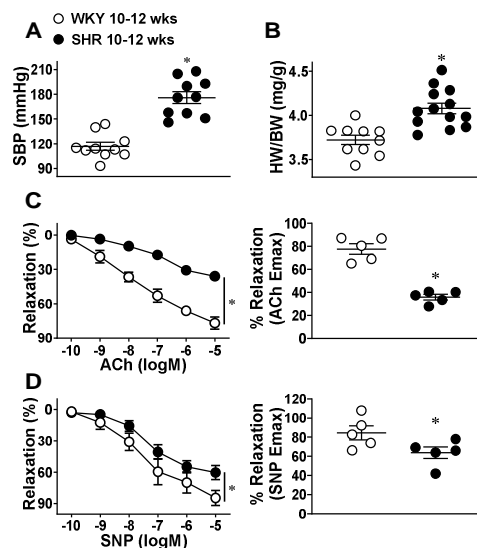
高血圧モデル動物としては、自然発症高血圧ラット（SHR）ならびにアンギオテンシン の持続注入によるラットモデルを用いて検討した。生理的、薬理的、生化学的反応の変化は常法により測定した。

4. 研究成果

(研究1)

自然発症高血圧モデルラット SHR の集合リンパ管において、アセチルコリンによる内皮依存性の弛緩反応は、正常ラットに比べて抑制されていた（右図）。一酸化窒素合成阻害薬 L-NAME によりアセチルコリンの弛緩反応は有意に抑制され、抗酸化薬 tempol、NADPH オキシダーゼ阻害薬 VAS-2870 の処置によりその抑制は改善された。さらに、p38 の発現が SHR で上昇し、p38 阻害薬 SB203580 によりアセチルコリンの弛緩反応の抑制も改善した。これらのことから、SHR における集合リンパ管の内皮依存性弛緩反応の障害は、p38/p47phox/NADPH オキシダーゼ 2 経路による活性酸素種の蓄積が原因であることが示された。

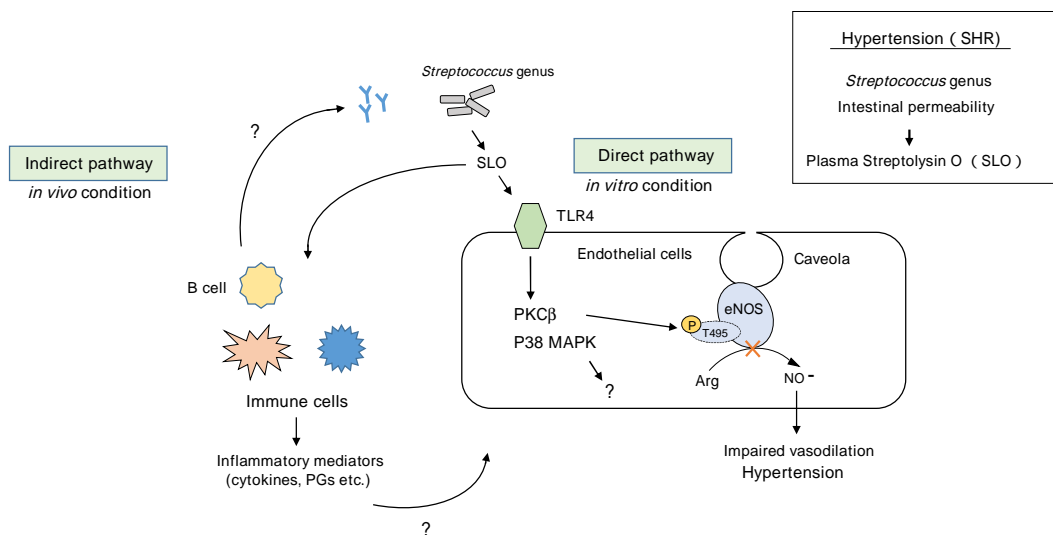
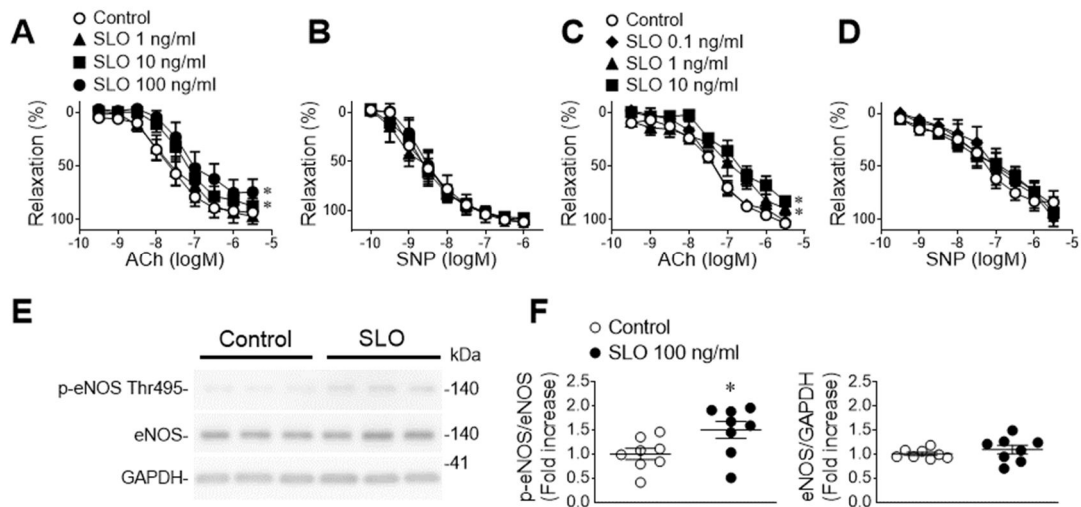
本研究は、Hypertension (2020 Aug; 76(2):598-606) に論文として掲載された。本誌は、インパクトファクター10.19 の American Heart Association が発行する著明誌である。



(研究2)

自然発症高血圧モデルラット SHR において、Streptococcus 由来の菌体毒素 streptolysin-0 (SLO) の血中濃度が上昇していた。SLO の血管内皮細胞に対する影響を検討したところ、PKC ベータを介して eNOS の磷酸化を促進し、eNOS 活性を阻害して内皮依存性弛緩反応を抑制することを見いだした（次ページ上図）。SLO をラットに投与すると、アセチルコリンで誘導される内皮依存性の血圧下降が抑制されることも見いだされた。以上の知見から、Streptococcus 毒素による高血圧発症という、新たな循環病態の機構の存在が示された（次ページ模式図）。

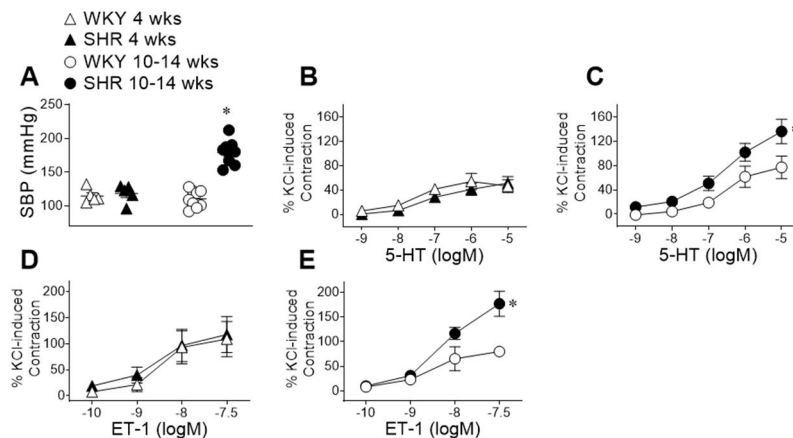
本研究は、J Pharmacology and Experimental Therapeutics (2021 379:117-124) に論文として掲載された。本誌は、インパクトファクター4.03 の American Pharmacological Society が発行する著明誌である。



(研究3)

自然発症高血圧モデルラット SHR の集合リンパ管において、セロトニンならびにエンドセリン1による平滑筋収縮反応は有意に増強していた(下図)。この収縮増強に伴って、RGS16の発現低下がみとめられ、さらにこの収縮増強はRhoA/ROCK阻害剤で抑制された。同様の平滑筋収縮増強はアンジオテンシンの持続注入によるラットモデルにおいても認められ、RhoA/ROCK阻害剤(Y-27632 and fasudil)で抑制された。リンパ管内皮細胞で得られた(研究1)の成果と合わせると、高血圧発症機序として、リンパ管内皮細胞の障害に加えて平滑筋機能障害もリンパ管コンプライアンス機能に影響を与えているものと理解できる。

以上の成果を、現在論文にまとめている(続報としてHypertension誌に投稿予定)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Masashi Mukohda, Risuke Mizuno, Hiroshi Ozaki	4. 巻 76(2)
2. 論文標題 Increased Blood Pressure Causes Lymphatic Endothelial Dysfunction via Oxidative Stress in Spontaneously Hypertensive Rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hypertension	6. 最初と最後の頁 598-606
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.14636	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masashi Mukohda, Sho Nakamura, Kosuke Takeya, Akira Matsuda, Takanori Yano, Mihiro Seki, Risuke Mizuno, Hiroshi Ozaki	4. 巻 379(2)
2. 論文標題 Streptococcal Exotoxin Streptolysin O Causes Vascular Endothelial Dysfunction Through PKC Activation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Pharmacol Exp Ther	6. 最初と最後の頁 117-124
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1124/jpet.121.000752	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Masashi Mukohda, Toshiyasu Matsui, Risuke Mizuno, Hiroshi Ozaki
2. 発表標題 Lymphatic Contraction Was Enhanced in Spontaneously Hypertensive Rats
3. 学会等名 American Heart Association, Hypertension2020（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 向田昌司、永西紗耶香、中村翔、竹谷浩介、松田彬、矢野嵩典、水野理介、尾崎博
2. 発表標題 細菌毒素streptolysin Oは血管内皮障害を引き起こす
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 向田昌司、水野理介、尾崎博
2. 発表標題 自然発症高血圧ラットにおいて、胸管の収縮反応性が増強される
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 向田昌司、水野理介、尾崎博
2. 発表標題 高血圧症におけるリンパ管収縮性機能の検討
3. 学会等名 第29回日本循環薬理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mukohda H, Mizuno R, Ozaki H
2. 発表標題 Lymphatic Smooth Muscle Relaxation Was Impaired in Spontaneously Hypertensive Rats
3. 学会等名 Gordon Research Conference 2020: Lymphatics (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 向田昌司、松井利康、中村翔、宮前二郎、矢野嵩典、水野理介、尾崎博
2. 発表標題 自然発症高血圧ラットSHRにおけるdysbiosisと腸管機能の解析
3. 学会等名 日本獣医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 関美宙、向田昌司、水野理介、尾崎博
2. 発表標題 ストレプトリジン0の血管収縮反応に及ぼす影響
3. 学会等名 日本平滑筋学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 向田昌司、水野理介、尾崎博
2. 発表標題 腸内フローラと生活習慣病：高血圧症の新たな治療標的を探る
3. 学会等名 日本比較薬理学会・毒性学会
4. 発表年 2021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	水野 理介 (Mizuno Risuke) (30273080)	岡山理科大学・獣医学部・教授 (35302)	

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