

令和 3 年 5 月 30 日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17872

研究課題名(和文) 移植後特発性肺炎症候群の解明：アンジオテンシノゲンは予測因子、予防法になるか

研究課題名(英文) Elucidation of post-transplant idiopathic pneumonia syndrome: is angiotensinogen a predictor and prophylaxis?

研究代表者

原 隆二郎 (Hara, Ryujiro)

東海大学・医学部・助教

研究者番号：90750026

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：野生型マウスへの移植後肺にCD3陽性T細胞の浸潤を認めた。肺でのアンジオテンシノゲンの発現はコントロールよりも低下していた。アンジオテンシノゲンの血中濃度が低下する肝臓特異的アンジオテンシノゲンノックアウトマウスへの移植後2週間の時点で、ノックアウトマウスで肺機能検査や炎症性サイトカインの発現が増悪しており、ノックアウトマウスで生存率が低下していた。野生型およびノックアウトマウスいずれも肺胞マクロファージでのアンジオテンシノゲンの産生が移植後で亢進していた。肝臓特異的アンジオテンシノゲンノックアウトマウスに対する移植後肺で、HMGB1-RAGE系の発現を野生型と比較した結果は同等であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血圧調節に関わるアンジオテンシノゲンによる様々な病態増悪機序が知られているが、本研究では血中のアンジオテンシノゲンが低い肝臓特異的アンジオテンシノゲンノックアウトマウスで、肺でのアンジオテンシノゲンの発現が逆に亢進し、移植後肺障害やブレオマイシン肺障害が増悪していた。このことは、各臓器でのアンジオテンシノゲンの発現量やその臓器障害は血中のアンジオテンシノゲン濃度測定では予測できない事を示している。

研究成果の概要(英文)：Infiltration of CD3-positive T cells was observed in the lungs after bone marrow transplantation into wild-type mice. Expression of angiotensinogen in the lung was lower than that of controls. Two weeks after transplantation into a liver-specific angiotensinogen knockout mice in which the blood concentration of angiotensinogen decreases, lung function tests and inflammatory cytokine expression were exacerbated in the knockout mice. The survival rate was reduced in the knockout mice. Both wild-type and knockout mice had increased production of angiotensinogen in alveolar macrophages after transplantation. Expression of the HMGB1-RAGE system in the lung was comparable in both wild-type and liver-specific angiotensinogen knockout mice.

研究分野：血液内科学

キーワード：アンジオテンシノゲン 造血幹細胞移植 ブレオマイシン

1. 研究開始当初の背景

白血病などの血液悪性疾患の一部は抗がん剤治療に抵抗性で、そのような場合、同種造血幹細胞移植が唯一の根治療法となる。しかしながら、同種免疫反応に起因する合併症である移植片対宿主病(Graft versus host disease=GVHD)は重篤化すると致死的であり、そのため造血幹細胞移植を安全に施行するためにはGVHDの予防・治療が重要である。移植後早期に発症する非感染性肺合併症のうち、特発性肺炎症候群(Idiopathic pneumonia syndrome =IPS)は同種造血幹細胞移植症例の5~10%程度に起こるまれな合併症であるが、発症すると有効な治療法がなく致死率が70~100%と極めて高い。そのため、同種造血幹細胞移植の安全性を高めるためにはIPSのリスク因子の同定や予防法の確立が急務である。

移植前処置である高用量の放射線照射や大量抗がん剤治療、そして肺以外の臓器の急性GVHDの発症がIPS発症のリスク因子となることが知られており、またマウスを用いた基礎的研究で様々な炎症性メディエーターの遺伝子改変にてIPS様の肺障害が誘発されることが報告されている。しかしながらこれらのリスク因子の有無や炎症性メディエーターの遺伝子多型等を用いてもIPSの発症を予測することはできず、IPSの発症・進展に関わる機序がそれ以外に存在する可能性が推測される。

我々はアンジオテンシノゲン産生の低下がIPSの素因であることを患者検体から見出した。しかしながら様々な炎症性疾患や線維化疾患においてレニン・アンジオテンシン系(Renin-Angiotensin system=RAS)は病勢増悪に働いていると考えられている。IPS患者で我々が検出した結果はこれまでの炎症性疾患や線維化疾患における機序と逆説的であり、RASがIPS発症に関わる機序は全く明らかとなっていない。そのためIPSの素因から予防法を確立するところまで未だ達していない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、同種造血幹細胞移植に伴う免疫学的合併症で最も重篤であるIPSの発症メカニズムを解明し、その発症予測や予防法の確立につながる知見を得る事が目的である。

我々はIPSの発症予測因子を同定するため、患者の一塩基多型(Single nucleotide polymorphism=SNP)を解析した。IPSを含む様々な肺疾患の病態に関わる既知の因子のSNPをピックアップし、それらとIPS発症との相関を症例対照研究にて解析した。すると唯一アンジオテンシノゲン遺伝子のSNPのみがIPSの発症と相関することを我々は世界で初めて見出した(not published)。肝臓で産生されるアンジオテンシノゲンは腎臓のレニン、そして肺のアンジオテンシン変換酵素により分解され生理活性を持つアンジオテンシンIIとなる。アンジオテンシンIIは本来の血圧調節以外にも、様々な炎症性疾患や線維化疾患の増悪因子として働いている。IPSにおいてもその病態にRAS系が関わっていることが我々のSNP研究の結果から示唆されたのだが、発症素因であるSNPを有するIPS患者では移植前のアンジオテンシノゲンの血中濃度が低下していた。つまりこの結果からIPSにおいてはRASが抑制されていることが素因と考えられるのだが、その他の疾患と逆説的でありその機序は明らかでない。

一方で、IPSと病態が類似している特発性肺線維症(Idiopathic pulmonary fibrosis=IPF)ではHigh mobility group box 1(HMGB1)とその受容体であるReceptor for advanced glycation end-products(RAGE)の経路が肺線維化を増悪させていることが近年注目されている。このRAGEに関して、IPF患者では逆説的に肺で発現が低下していることが報告されているのだが、その機序は明らかとなっていない。このHMGB1-RAGE系によりアンジオテンシノゲンの発現が誘導されている。またRAGEのスプライシングバリエーションである内在性分泌型RAGE(endogenous secretory RAGE=esRAGE)は細胞外でリガンドを補足するためHMGB1-RAGE系に拮抗しているが、このesRAGEの発現はRASにより抑制されている(下図)。このようにHMGB1-RAGE系とRASは密接に関わっており、IPSやIPF患者で炎症や線維化病態を増悪させている。これらが逆説的に抑制されている背景には両疾患で同様の機序が隠れているのではないかと考えた。IPSはドナーリンパ球と患者の肺組織という遺伝的に異なる細胞の相互作用である。そこで、素因としてRASやRAGEが抑制されている患者肺に、アンジオテンシノゲンを正常に発現するリンパ球等の炎症細胞が作用した場合、急激な炎症や線維化に到るのではないかとという仮説を考えた。その仮説を検証するため、今回プレオマイシン誘発性肺線維症マウスモデル(IPFモデル)と、GVHDマウスモデル(IPSモデル)を用いた本研究を計画した。

3. 研究の方法

C57BL6 マウス(H2b)に、B10.BR マウス(H2k)の骨髄細胞及び脾臓 T 細胞を 移植する GVHD モデルを確立した。移植 2 週間後の肺機能や免疫細胞浸潤と、そして RAS 因子の RNA、蛋白発現を解析した。同様にアンジオテンシノゲンの血中濃度が低下する肝臓特異的アンジオテンシノゲンノックアウトマウスに移植する GVHD モデルで肺障害を評価した。その際の HMGB1-RAGE 系の発現変化を評価した。

また、より簡便な肺障害モデルであるブレオマイシン肺障害モデルにおいてレニン・アンジオテンシン系と HMGB1-RAGE 系の発現に関する関連の有無を評価した。

4. 研究成果

野生型マウスへの移植後肺に CD3 陽性 T 細胞の浸潤を認めた。肺でのアンジオテンシノゲンの発現はコントロールよりも低下していた。アンジオテンシノゲンの血中濃度が低下する肝臓特異的アンジオテンシノゲンノックアウトマウスへの移植後 2 週間の時点で、ノックアウトマウスで肺機能検査や炎症性サイトカインの発現が増悪しており、ノックアウトマウスで生存率が低下していた。野生型および肝臓でのアンジオテンシノゲンノックアウトマウスいずれも肺胞マクロファージでのアンジオテンシノゲンの産生が移植後で亢進していた。

肝臓特異的アンジオテンシノゲンノックアウトマウスに対する移植後肺で、HMGB1-RAGE 系の発現を野生型と比較した結果は同等であり、本実験モデルにおけるレニン・アンジオテンシン系と HMGB1-RAGE 系の相関関係は見出されなかった。

より簡便な肺障害モデルであるブレオマイシン肺障害モデルで同様に評価した。肝臓特異的アンジオテンシノゲンノックアウトマウスで野生型に比較して肺機能検査や炎症性サイトカインの発現が増悪しており、肺の線維化反応が亢進していた。移植モデルと同様に、野生型および肝臓特異的アンジオテンシノゲンノックアウトマウスいずれもブレオマイシン投与後に肺胞マクロファージでのアンジオテンシノゲンの産生が亢進していたが、肺でのアンジオテンシノゲン発現量は肝臓特異的アンジオテンシノゲンノックアウトマウスで野生型より亢進していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Hara R, Onizuka M, Shiraiwa S, Harada K, Aoyama Y, Ogiya D, Toyosaki M, Suzuki R, Machida S, Ohmachi K, Ogawa Y, Kawada H, Watanabe S, Miyajima A, Masuda R, Iwazaki M, Mikami M, Koike T, Mochizuki H, Ando K	4. 巻 21
2. 論文標題 The role of hypertension and renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors in bleomycin-induced lung injury.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical lymphoma myeloma & leukemia	6. 最初と最後の頁 321-327
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.clml.2020.10.004	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 原 隆二郎
2. 発表標題 移植後特発性肺炎症候群の解明: アンジオテンシノゲンは予測因子、治療標的になりえるか
3. 学会等名 日本造血細胞移植学会学術集会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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