

成果報告書〈概要〉

施設・所属: 東北大学循環器内科 _____

氏名: 矢尾板 信裕

1. 概要の構成は自由ですが、留学成果報告として広報資料に掲載されます点をご留意ください。
2. 研究目的、研究手法、研究成果など、一般の方にもわかりやすくしてください。
3. 3.A4 1ページでまとめてください。(図表・写真などの貼付を含む、日本語)

肺高血圧症(PH)は、肺動脈内皮細胞(ECs)と肺動脈平滑筋細胞(SMCs)の増殖に伴う血管リモデリングを主体として、肺動脈を完全に閉塞する疾患である。このため、肺動脈圧が上昇し、最終的に右心不全をきたす致死的疾患である。5年生存率は60%と低く、PHの発症機序は明らかにされていない。PHの発症初期は血管内皮細胞のアポトーシスが認められ、最終的にはアポトーシス抵抗性でかつ増殖能の高い血管内皮細胞が出現することが報告されている。近年、オートファジーと様々な心血管疾患の関連が報告されている。オートファジーは細胞が飢餓状態になった際にオートライソソームを形成し、細胞内小器官を消化し、エネルギーを作り出し、アポトーシスから細胞を保護する働きがある。しかし、一方で過剰なオートファジーは細胞をアポトーシスに導くことも知られている。このようにオートファジーはアポトーシスとアポトーシス抵抗性のバランスを制御している。

PHでは、ECs及びSMCsにてオートファジーが活性化されていることは今まで報告されているが、オートファジーがPHに保護的に働くかどうかは議論が分かれている。この原因としてPHにおけるオートファジーの働きを細胞種毎に解析できていない点が挙げられる。そこで、今回PHに関わるSMCs、血管内皮細胞(肺動脈内皮細胞(PAECs)、微小血管内皮細胞(MVECs))に分けて、オートファジーの働きを解析した。

まず、細胞種毎にオートファジーをノックアウトするために平滑筋特異的 ATG7 ノックアウトマウスと血管内皮特異的 ATG7 ノックアウトマウスを作成した。低酸素暴露によりPHを誘発した所、野生型マウスに比べ平滑筋特異的 ATG7 ノックアウトマウスではPHの改善を認めなかったが、内皮特異的 ATG7 ノックアウトマウスではPHの改善を認めた。組織をみると、肺動脈径が40 μ m以下の微小肺動脈において血管リモデリングが著明に改善することがわかった。そこで、PAECsとMVECsではオートファジーの働きが異なる可能性が考えられ、*in vitro*でそれぞれにおけるオートファジーの働きを検討した。

まず、低酸素刺激によりPAECsとMVECsでは共にオートファジーが活性化された。これらの細胞に低酸素刺激、もしくはオートファジー誘導体であるBeclin1を投与し、それぞれの細胞の増殖能とアポトーシスを検討した。PAECsではオートファジーの活性化に伴い増殖能が増す一方、MVECsではアポトーシスが誘導され、増殖能も低下することがわかった。さらに、これらの変化はSiRNAによりATG7をノックダウンすることで阻害された。

次にPAECsとMVECsを低酸素下で共培養し、MVECsがPAECsに置換されるかどうかを検討した。共培養すると非低酸素化ではPAECsにMVECsが置換されることはなかったが、低酸素化ではPAECsにMVECsが置換された。さらにオートファジーを阻害するBafilomycin A1を投与するとこの置換が阻害された。このことからPHの初期にはMVECsがアポトーシスを起こし、増殖能力の高いPAECsが微小肺動脈に浸潤していく可能性が考えられた。

最後にPAECsとMVECsのSMCsへの影響を検討した。PAECsとMVECsを低酸素下で培養し、そのconditioned medium(CM)を回収した。CMをSMCsに投与し、増殖能とMigrationを解析した。MVECs由来のCMに比べ、PAECs由来のCMではSMCsの増殖能とMigrationが著明に高かった。この原因としてPAECsからはPlatelet derived growth factor(PDGF)が分泌されているが、MVECsからは分泌されていないことがウェスタンブロットにより明らかになった。PAECs由来のCMにPDGF受容体阻害剤であるimatinibを投与するとSMCsのMigrationが抑制されることがわかった。

以上のことから肺高血圧症の発症初期において、オートファジーが活性化しMVECsではアポトーシスが生じ、PAECsは増殖能が高くなり、PAECsがMVECsを微小肺動脈に浸潤し、浸潤したPAECsがSMCsを誘導し血管リモデリングを起こす可能性が示唆された。