

## 海外留学助成 2018 – 呼吸器・アレルギー領域 –

## 成果報告書 &lt;概要&gt;

施設・所属	Amsterdam UMC, Department of Pulmonology
氏名	重城 喬行 (Takayuki Jujo)
研究テーマ	三次元血栓モデルを用いた慢性血栓塞栓性肺高血圧症の内皮細胞・血小板の機能異常解析および病態機序解明

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. A 4 1 ページでまとめてください (図表・写真などの添付を含む、日本語)

Amsterdam UMC における 2 年間の留学期間中には、助成申請時に予定していた「慢性血栓塞栓性肺高血圧症 (CTEPH) における内皮細胞・血小板の機能異常解析」に加え、「肺動脈性肺高血圧症患者および動物モデルにおける TGF- $\beta$  シグナル伝達の共通点と相違」についてのプロジェクトに携わった。

#### 1. 慢性血栓塞栓性肺高血圧症の内皮細胞・血小板の機能異常解析および病態機序解明

グアニル酸シクラーゼ刺激薬 リオシグアトは CTEPH に対して有効性が確認された肺血管拡張薬である。申請者らはリオシグアトが CTEPH 患者において出血リスクを高いことを報告しており (Takayuki Jujo-Sanada, Pulm Circ 2017)、リオシグアトが CTEPH 内皮細胞と血小板の相互作用に影響を与えるのではないかと仮説を立て解析を開始した。

CTEPH 由来内皮細胞は患者から血栓内膜摘除術で摘出された器質化血栓から分離し培養した。内皮細胞から放出される凝固因子で、血小板との付着に関わる von Willebrand factor (vWF) の発現について、通常の静的培養条件下、Sheer stress 下における動的条件下における内皮細胞へのリオシグアトが与える影響について解析した。

Western blot, ELISA 法による静的条件での細胞内・細胞外放出蛋白の解析では、リオシグアトは vWF の発現に影響を与えない結果であったが、動的な条件である Sheer stress 下ではリオシグアト投与により vWF の発現および血小板付着が減少することが明らかとなった。この結果について細胞外に放出された vWF の安定化因子の発現がリオシグアトにより抑制され、細胞外に放出された vWF が Sheer stress 下で断裂されるのではないかと考えられ、vWF の安定化因子の候補として P-セレクチン、インテグリン  $\alpha v \beta 3$  などが考えられる。しかしコロナウイルス感染拡大に伴うロックダウンにより研究室への出入りが 3 ヶ月ほど原則禁止となった影響で、安定化因子の探索とその機序解析については完了できず、留学期間終了に伴い帰国することとなった。続く解析については今後もラボに残った同僚たちとオンラインデミーティングを重ね、実験を継続していただくこととなっている。研究成果は今後学会発表・論文の形で世界に発信する予定である。

#### 2. 肺動脈性肺高血圧症患者および動物モデルにおける TGF- $\beta$ シグナル伝達の共通点と相違

肺動脈性肺高血圧症 (PAH) は細胞増殖抑制に働く BMPR2 シグナルに対し、細胞増殖促進に働く TGF- $\beta$  シグナルの相対的亢進が病態発生の要因であると考えられている。一方、動物モデル、PAH 患者におけるそれぞれの解析では、TGF- $\beta$  シグナル発現の傾向は異なり一貫しない。本研究では TGF- $\beta$  シグナル解析の意義について、ヒト PAH 患者 (特発性・遺伝性)、二つの PAH 動物モデル (モノクローリンモデル、Su5416/低酸素モデル) における TGF- $\beta$  シグナルの蛋白、mRNA、肺血管でのシグナルについて同一条件で比較検討した。結果として TGF- $\beta$  は高値であるが、受容体以降の下流のシグナル伝達については、肺全体における mRNA、蛋白発現、肺血管における TGF- $\beta$  受容体の発現など、ヒト患者および動物モデルの間では一貫した結果が得られなかった。このことは動物モデルの解析結果をヒトで適用することの危うさを指摘し、これまでのシグナルの解析方法・ロジックの妥当性について一石を投ずるものと考えている。なお、この研究成果についてはすでに論文として公開されている (Sanada.T.J, et al. Cells 2021;10:84)。

本研究助成を通じ、2 年間の留学期間で何物にも代えられない経験をたくさんさせていただきました。心から感謝申し上げます。誠にありがとうございました。