

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

肺動脈由来血管平滑筋細胞の肺高血圧症における意義

研究分担者 平野 賢一 大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科 助教

研究要旨

肺高血圧症は種々の原因により生じるが、いずれも現時点では、完治が困難であり、生命予後が悪く、ADLも低下させる難病である。昨年度は、肺動脈由来血管平滑筋細胞（以下、PA-SMC）の培養法を用いて、慢性血栓性塞栓性肺高血圧症（以下、CTEPH）、肺動脈性肺高血圧症（以下、PAH）の病態について考察した。CTEPHでは、血栓形成或いは線溶系の異常が病態の首座であると考えられるにも関わらず、単離したPA-SMC細胞は、*in vitro*において明確な異常表現型を呈していた。最近、Eyriesらによって、肺静脈閉塞症（PVOD）の原因遺伝子の一つとして、翻訳開始因子のキナーゼである eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 4 (EIF2AK4)が同定された。今回は、本分子とPVODの病態との関わりについて、考察したい。

A．研究目的

PVODの病態を、種々の肺高血圧症から単離したPA-SMCを用いた *in vitro* の実験系により、明らかにする。

B．研究方法

1) 対象

以下、3群において、PA-SMCを培養した。  
慢性血栓性閉塞性肺高血圧症(以下、CTEPH) 13例、  
原発性肺動脈性肺高血圧症（以下、IPAH） 2例、  
非PH剖検例（以下、Control） 3例。

2) 方法

肺動脈血栓内膜除去術或いは肺移植や剖検の際に肺動脈を得て、*explant* 法にて細胞を単離、*non-coating* 培養皿上で、血管平滑筋細胞増殖用メデイウム（プレートキット SmGM-2: hEGF, insulin, hFGF-B, FBS 含有。Lonza)にて培養し、実験に供した。

3) 評価項目

細胞形態（光学顕微鏡）  
細胞増殖能（BrdU取り込み）、  
*in vitro* アポトーシス(Cleaved caspase-3)

4) PVODと肺動脈SMCとの関係について文献的考察を加えた。

（倫理面への配慮）

本研究は、国立循環器病研究センター倫理委員会における承認を受けた文書による承諾を得た。

C．研究結果

1)CTEPH由来PA-SMCとPAH由来PA-SMCの比較。

前者は、細胞増殖が低下、後者は、増加していた。*In vitro*において、前者ではアポトーシスを示す細胞が多いにも関わらず後者では、減少していた。

2)PVODの原因遺伝子としての eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 4 (EIF2AK4)についての文献的考察。

最近、Eyriesらは、フランスのPVOD 13家系を用いたリンケージ解析及び whole-exon シークエンスの結果、責任遺伝子として、EIF2AK4を同定した (Eyries et al. Nat Genet 46; 65-70, 2014)。EIF2AK4遺伝子変異のPVODにおける病態学的意義は、未だ不明ではあるが、EIF2AK4は、翻訳開始因

子である EIF2 をリン酸化するキナーゼであり、アミノ酸欠乏に反応することが知られている。その Knockout マウスは、ロイシン欠乏食下において著明な脂肪肝を示すことが報告される (Guo *et al.* Cell Metabolism 5; 103-

114,2007)など、EIF2AK4 は、肺以外の多くの細胞や組織で発現している。Eyries らの論文での免疫染色結果、及び NCBI データベースの検索から、EIF2AK4 が SMC においても発現していることが明らかになっている。

#### D . 考察

最近、PVOD の原因遺伝子として、EIF2AK4 が、同定、報告された。本邦 PVOD 症例においても、EIF2AK4 変異が認められるか否か、興味深い。EIF2AK4 は、PA-SMC にも発現が確認されていることから PVOD 症例由来 PA-SMC の解析は、本症の病態に重要な情報を与える可能性があると考えられる。今後 EIF2AK4 変異について検討したい。

#### E . 結論

PVOD では、病理学的に肺動脈の内膜肥厚などを認めるが、本症の PA-SMC の *in vitro* における解析についての報告は皆無である。今後、本 PVOD 研究班の成果により、PVOD の診断例が増加して、症例由来 PA-SMC の解析、その結果が、治療法選択、新規治療法開発につながることを期待する。

#### G . 研究発表

- 1 . 論文発表  
なし
- 2 . 学会発表  
なし

#### H . 知的財産権の出願・登録状況

- 1 . 特許取得  
特になし
- 2 . 実用新案登録  
特になし
- 3 . その他  
特になし