

No.	22-1047	
研究課題名	呼吸器疾患を血管内皮細胞から考える-細胞形質転換の制御による内因性自己組織修復法の解明-	
研究代表者	関根 亜由美（千葉大学医学研究院 呼吸器内科学/真菌医学研究センター 呼吸器生体制御学研究部門・助教）	
研究組織	受入教員	岩間 厚志（東京大学医科学研究所・教授）
	分担者	中島 やえ子（幹細胞分子医学・助教）
	分担者	大島 基彦（幹細胞分子医学・助教）
	分担者	小出 周平（幹細胞分子医学・研究員）
	分担者	岩間 厚志（幹細胞分子医学・教授）

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業  
共同研究報告書 (年次終了・研究完了)【国内】

共同研究報告 (年次終了)

難治性呼吸器疾患の発症において肺血管内皮細胞と造血系細胞間における内皮血球転換 (EHT) の参画に関する報告は乏しく、未だ明らかになっていない。

本研究ではマウス肺高血圧症モデルを用いて、この内皮血球転換 (EHT)機構を明らかにすることを目的に研究を進めて来た。

初年度よりwild typeマウスを用いて、慢性低酸素暴露モデル及び低酸素暴露+Sugen5416 (VEGFR阻害薬)マウスを作成した。これまでに明らかとなった内容としては、まず①マウス右心カテーテル法の確立を行い、詳細な血行動態と肺組織での血管リモデリングの評価を比較して行った。②マウス肺組織を用いたα-SMA染色、EVG染色等を用いて、右室収縮期圧 (RVSP) 上昇と一致して、血管の筋性化が有意に高くなることを確認した。③内皮血球転換 (EHT)機構のキーとなる転写因子のRunx1+/VE-cadherin+CD31+CD45-細胞をEHT肺血管内皮細胞と定義して、関連する血管新生関連因子を含め網羅的にフローサイトメトリー解析を行った。EHT陽性細胞は2つのモデルとも病勢に一致して有意に高い割合で維持されていることが明らかとなり、それに一致して肺組織での免疫染色や蛍光免疫染色では特に肺末梢組織に有意に多く分布していた。

本年度は新たに、④2つのモデルを用いて脾臓、骨髄についても同様の解析を行い、脾臓ではday7の急性期でRunx1発現が一過性に上昇し、その後病勢に伴って定常状態に戻っていくこと、骨髄では病勢に一致してRunx1発現が下降していくことを確認した。また、⑤パラフィン固定を行ったマウス肺100μmの厚切り切片を作成し、3D立体構築で電子顕微鏡撮影の詳細な病理像の確認を行った上で、刺激がより強い低酸素暴露+Sugen5416モデルの切片を用いた蛍光免疫染色を行った。肺末梢側有意にEHT陽性肺血管内皮細胞が連なって存在していることが初めて明らかとなった。今後は、si RNAやCRISPR-CAS9等の遺伝子編集技術を用いてRunx1ノックイン、またノックダウン操作後のマウス肺血管内皮細胞を用いた培養系実験、またRunx1を特異的に標識したGFPマウスを用いた細胞系譜解析も加えて評価していく方針である。

100μm厚 蛍光免疫染色 立体構築画像 キーエンス社 BZ-X800 使用

