

< Editorial Comment >

## 肺循環と小児血管医学のパラダイム

三重大学医学部小児科 三谷 義英

**key words:** 肺循環, 先天性肺動脈疾患, 小児血管医学, 血管生物学, 分子生物学

門間論文は, 先天性肺動脈疾患全般について胎児期の形態, 生後のリモデリングの観点から, 臨床例と最近の胎児心エコー法, 動物実験のデータに基づいた総説で, 小児肺循環の疾患を「血管病」の視点から総括, 問題提起している. 近年の血管生物学の進歩に伴い, それらの小児循環器日常臨床で問題となる病変の病態解明とそれに基づく新しい治療法, 診断法への応用が期待され, 血管生物学に基づく「小児血管医学」へのパラダイムシフトが起りつつあると言われる. 「肺循環」は特に小児循環器临床上重要と考えられ, 門間論文で焦点を絞った動脈管閉鎖, 肺動脈発育, 肺動脈閉塞性病変は, 今後の specific な小児血管医学研究の重要なターゲットと考えられ, そう言う意味でも有益な論文である. 本 Editorial Comment では, 肺循環の小児疾患について生後及び術後の変化につき, 血管生物学的な病態の側面から我々のグループの知見, 最近の動向もまじえて概説する.

### 1. 動脈管の新生内膜形成

動脈管の新生内膜形成は, 動脈管の収縮と共に動脈管閉鎖に関与し, 動脈管依存性疾患と関わりが深い. 胎生後期に新生内膜形成が始まり, 組織学的には内弾性板の断裂, 中膜平滑筋の内膜への遊走, 増殖, 細胞外マトリックス (hyaluronan, heparan sulfate, fibronectin) の沈着が認められる<sup>1,2)</sup>. 特に動脈管由来平滑筋細胞は fibronectin を多く産生し, その遊走能が亢進しており, マトリックス受容体 (インテグリン) を抑制する RGD ペプチドはこれを抑制し, fibronectin が遊走に重要と考えられる<sup>2)</sup>. この fibronectin 産生は mRNA の翻訳レベルで調節され, 最近この翻訳の調節因子として microtubule 結合蛋白 LC 3 が同定された<sup>3)</sup>. LC 3 は fibronectin mRNA の 3' untranslated region の AU-rich element に結合し, fibronectin の翻訳を促進する. また fibronectin mRNA の 3' untranslated region をレポーター遺伝子に結合させた decoy RNA を作成し, 胎生期に羊の動脈管に HVJ-liposome 法により transfect させると fibronectin 産生が低下し, 新生内膜形成が抑制される. この様に LC 3-fibronectin 系は動脈管新生内膜形成過程に重要であり, 治療ターゲットとしても注目される<sup>4)</sup>.

### 2. 肺動脈発育

血流による血管に加わる shear stress は急性に血管を拡張させると共に慢性効果として collagen, elastin, proteinases の分泌を促し, vascular remodeling を伴った血管径の変化を及ぼす. これら急性, 慢性効果は内皮に加わる shear stress が一定になる様に調節され, 内皮の剥離により抑制される事から内皮由来の因子が関連すると考えられ, この分野の研究が始まった<sup>5)</sup>. 急性の shear stress の弛緩効果には, インテグリンシグナルの関与が報告される. 慢性効果では, 内皮細胞は物理的刺激を metabolic な刺激に変換する媒体として働くが, remodeling に伴う中膜, 内膜細胞の生物学的変化を内皮が如何に調節しているかは明らかで無い. 内皮由来 growth factor ないし chemokine があげられるが, 最近, 培養内皮細胞を用いて shear stress をかけた実験系で differential display 法によりランダムに刺激により発現調節される遺伝子の検討され, cyclooxygenase-2, マグネシウム superoxide dismutase, 内皮型 NO 合成酵素などがあげられ<sup>6)</sup>, 細胞内シグナル伝達系では focal adhesion kinase (FAK) の tyrosine リン酸化, MAPKinase リン酸化が報告される. しかし実際 in vivo でそれらの遺伝子が血流変化による血管径の変化に如何なる影響が有るかは各遺伝子の knock out mice を用いた実験ないし抑制実験が待たれる. またこれらの研究は大部分体血管を用いてなされたものであり, 肺循環での術後などの肺血管発育の機序とそれに基づく薬物療法は今後の課題である.

### 3. 閉塞性肺血管病変

対象領域：肺循環，血流，遺伝素因，発達が重要なパラダイム
* 肺循環 肺高血圧，術後肺動脈發育，動脈管閉鎖，右心バイパス術後病変，短絡性心疾患に伴う心不全（体循環との薬理学的差異）肺循環の運動負荷 / 運動療法，インターベンション / 術後再狭窄
* 川崎病 病因，遺伝素因，動脈瘤形成，遠隔期病変形成，遠隔期の血管機能
方法論：多様，interdisciplinary，身近かに
* 患者の解析 生化学的 / 生理学的解析，免疫組織学的解析，遺伝学的解析
* 動物モデルの解析 個体レベル / 器官レベルの解析，遺伝子機能解析
* 細胞モデルの解析 分子細胞生物学的解析

図1 小児血管医学の対象領域と方法論

肺高血圧血管病変では，特徴的な病変に脱分化した平滑筋，マクロファージ，マスト細胞の浸潤などが関連する事が知られるが<sup>7,9)</sup>，ごく病初期では先天性心疾患に伴った肺高血圧，ラット肺高血圧モデルで，電顕的検討で内皮細胞の形態異常と内弾性板の断裂が認められ，肺高血圧の発症進展に何らかの内皮異常，proteinase 活性化の関与が推察されている<sup>2,9)</sup>。最近の血管生物学の進歩により種々の内皮由来収縮弛緩因子が同定され，肺高血圧血管において endothelin 産生亢進，NO，prostacyclin 産生低下が知られ，ラット肺高血圧モデルの実験，knock out/transgenic mice ないし gene transfer を用いた実験，ヒトでの検討からそれらが肺高血圧の病態に重要である事が知られる<sup>10)</sup>。一方，ラット肺高血圧の発症進展に serine elastase が重要であると抑制実験で証明され，それは平滑筋由来と報告された<sup>2,9)</sup>。この平滑筋由来 elastase は，matrix metalloproteinase 活性化およびそれによる平滑筋の survival factor である tenascin-C 産生，mitogenic growth factor の bFGF 活性化を通じて，平滑筋細胞増加に働く<sup>2,9)</sup>。近年，培養平滑筋細胞の elastase 産生系の differential display 法を用いた検討で，elastase の転写因子 AML 1 が同定され，その活性化に MAPKinase の関与が報告をしてきた<sup>11)</sup>。最近，NO/cGMP 系が elastase 活性を MAPkinase を抑制し AML 1 を抑制する事により抑制する事を報告し<sup>11)</sup>，病初期に見られた内皮異常と内弾性板の断裂をつなぐ分子機序と考えられ，肺高血圧の発症進展，治療の観点から重要と考える<sup>12)-14)</sup>。また，転写因子 AML 1 は，第 21 番染色体の Down syndrome critical region 近傍に位置し，ダウン症候群で gene dose 効果により発現亢進が見られ，ダウン症候群における先天性心疾患に伴う肺高血圧のリスクに関与する可能性の点からも関心を持たれる。

#### 4. 他の小児血管医学の対象について (図1)

他の分野では，あまり詳細な病態とそれに基づく治療法の研究はなされていないが，肺循環では，右心バイパス術後肺動静脈瘻，短絡性心疾患に伴う心不全（体循環との薬理学的差異）<sup>5)</sup>，肺循環と運動負荷/運動療法<sup>16,17)</sup>，先天性心疾患術後/インターベンション後再狭窄などと他に川崎病血管病変<sup>18,19)</sup>は，今後血管生物学的アプローチによる研究対象となり得ると考えられる。

振り返って，ごく最近の生命科学の進歩は激しい。ヒトゲノム計画も終盤にさしかかり，解読されたゲノム塩基配列をもとにその機能を体系的/網羅的(ゲノムスケール)に解析するゲノム機能科学のポストゲノムシーケンズ時代へ突入しつつあると言われる。ゲノムスケールの遺伝子発現プロファイルの解析法として DNA array，proteomics が現在導入され，また遺伝子多型の解析として SNP (single nucleotide polymorphism) の解析が行われるが，近い将来チップ化されたプレートの価格が低下し PCR 感覚で臨床医でも可能ではないかと期待される。遺伝子機能の個体レベルでの解析に多くの遺伝子改変マウスが商業ベースで現在購入可能であるが，さらにゲノム情報をふまえ系統的変異導入 ES 細胞を用いた大量遺伝子改変マウス作成プロジェクトが開始されつつある。遺伝子導入実験も個体/器官レベルでも比較的容易となり，すでに多くの分子生物学の実験はキット化/外注化され，身近かなものとなっている。また分子発生生物学の進歩により，臓器再生，細胞移植など再

生医学/医療も注目されている。これらの遺伝子諸科学に基づき、今後基礎生物学のみならず臨床診断治療学に大きな変革をもたらされ、遺伝素因、体系的な遺伝子発現情報に裏打ちされた個別化医療、ゲノム創薬の実現が期待される。このような時代背景のもとに、小児循環器医が小児循環器日常臨床、特に生活管理治療上重要な小児血管病を考える方法論(図1)が、患者レベル-動物個体/器官レベル-細胞内分子機序まで「多様」「interdisciplinary」「身近か」となり、それによりその対象疾患が上記疾患以外(図1)にも広がり、臨床現場からの疑問により対応した形になる可能性が考えられる。特にその対象領域では、成人の血管疾患では、冠動脈、動脈硬化が中心的であるが、臨床的観点からも「肺循環」「血流刺激」「遺伝素因」「発達」の視点/基礎学問/パラダイムが我々の領域の独自性(identity)の様に感じている。学際的な方法論の統合と対象領域の拡大が現実になりつつある今日、今後5~10年に小児血管医学研究の成果が日本小児循環器学会でもより盛んに発表される事と思う。

## 文 献

- 1) Slomp J, van Munsteren JC, Poelmann RE, de Reeder EG, Bogers AJ, Gittenberger de Groot AC : Formation of intimal cushions in the ductus arteriosus as a model for vascular intimal thickening. An immunohistochemical study of changes in extracellular matrix components. *Arteriosclerosis* 1992 ; 9( 1 2 ) : 25 39
- 2) Rabinovitch M : Cell-extracellular matrix interactions in the ductus arteriosus and perinatal pulmonary circulation. *Seminars in perinatology* 1996 ; 20( 6 ) : 531 541
- 3) Zhou B, Boudreau N, Coulber C, Hammarback J, Rabinovitch M : Microtubule-associated protein 1 light chain 3 is a fibronectin mRNA binding protein linked to mRNA translation in lamb vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1997 ; 100( 12 ) : 3070 82
- 4) Manson CA, Bigras JL, O'Blenes SB, Zhou B, McIntyre B, Nakamura N, Kaneda Y, Rabinovitch M : Gene transfer in utero biologically engineers a patent ductus arteriosus in lambs by arresting fibronectin-dependent neointimal formation. *Nat Med.* 1999 ; 5( 2 ) : 176 82
- 5) Davis PF : Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Review* 1995 ; 75( 3 ) : 519 560
- 6) Topper JN, Cai J, Falb D, Gimbrone MA Jr : Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli : cyclooxygenase-2, magnesium superoxidase dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93( 19 ) : 10417 22
- 7) Mitani Y, Ueda M, Maruyama K, Matsumura M, Sakurai M : Smooth muscle phenotypes in pulmonary hypertension *Eur Respir J* 2000 ( in press )
- 8) Mitani Y, Ueda M, Maruyama K, Shimpo H, Kojima A, Matsumura M, Aoki K, Sakurai M : Mast cell chymase in pulmonary hypertension. *Thorax* 1999 ; 54( 1 ) : 88 90
- 9) Rabinovitch M : EVE and beyond, retro and prospective insights. *Am J Physiol* 1999 ; 277( 21 ) : L 5 12
- 10) Fishman AP, Figman MC, Freeman BA, Gimbrone MA, Rabinovitch M, Robinson D, Gail DB : Mechanisms of proliferative and obliterative vascular diseases. Insights from the pulmonary and systemic circulation. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 ; 158( 2 ) : 670 4
- 11) Mitani Y, Zaidi SH, Dufourcq P, Thompson K, Rabinovitch M : Nitric oxide reduces vascular smooth muscle cell elastase activity through cGMP-mediated suppression of ERK phosphorylation and AML 1 B nuclear partitioning. *FASEB J* 2000 ; 14( 5 ) : 805 14
- 12) Maruyama J, Maruyama K, Mitani Y, Kitabatake M, Yamauchi T, Miyasaka K : Continuous low-dose NO inhalation does not prevent monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Am J Physiol* 1997 ; 273( 1 Pt 2 ) : H 517 524
- 13) Mitani Y, Maruyama K, Sakurai M : Prolonged administration of L-arginine ameliorates chronic pulmonary hypertension and pulmonary vascular remodeling in rats. *Circulation* 1997 ; 96( 2 ) : 689 697
- 14) Mitani Y, Maruyama J, Yokochi A, Maruyama K, Yoshimoto T, Naruse M, Sakurai M : Modulated vasodilator responses to natriuretic peptides in rats exposed to chronic hypoxia. *Eur Respir J* 2000 ; 15( 2 ) : 400 6
- 15) Michelakis ED, Roove HL, Huang JM, Tolarova S, Nelson DP, Weir EK, Archer SL : Potassium channel diversity in vascular smooth muscle cells. *Can J Physiol Pharmacol* 1997 ; 75 : 889 897
- 16) Mitani Y, Maruyama J, Maruyama K, Sakurai M : Exercise training does not alter acetylcholine-induced responses in isolated pulmonary artery from rats. *Eur respir J* 1999 ; 13( 3 ) : 622 625
- 17) Ikawa S, Shimazaki Y, Nakano S, Kobayashi J, Matsuda H, Kawasahima Y : Pulmonary vascular resistance during exercise late after repair of large ventricular septal defects. *J Thoracic Cardiovasc Surg* 1995 ; 109 : 1218 24
- 18) Mitani Y, Okuda Y, Shimpo H, Uchida F, Hamanaka K, Aoki K, Sakurai M : Impaired endothelial function in epicardial coronary arteries after Kawasaki disease. *Circulation* 1997 ; 96( 2 ) : 454 461
- 19) Mitani Y : Coronary endothelial dysfunction after Kawasaki disease. *J Am Coll Cardiol* 2000 ; 35( 3 ) : 821 3