

< Editorial Comment >

モデル動物と肺高血圧発症のメカニズム

埼玉医科大学心臓病センター小児心臓科 小林 順

モデル動物を使って肺高血圧の成因を探ることは、本症の治療、予防を考える上で大切なことである。代表的なモデルとしては、血行動態異常、低酸素性、薬物、そして肺塞栓などによる肺高血圧モデルがある。これらを使った肺高血圧症の研究は、病理学的肺血管病変を、生化学的、分子生物学的に検証することにある。複雑な本症の成因を今後研究するにあたり、発症メカニズムの概要を、最近の知見を含めて説明する。

A 実験的肺高血圧症モデル

(1) 血行動態異常による実験的肺高血圧症モデル

小児循環器医が経験する多くの肺高血圧症は、先天性心疾患に伴う肺高血圧で、異常な血行動態が誘因となった肺血管の再構築である。高肺血流の作成のため、犬やラットを使った片肺切除¹⁾、片側肺動脈 banding²⁾や ligation³⁾などが行われているが、高肺血圧を伴うことは少なく肺動脈の器質的病変はできにくいとされている。左右短絡モデルでは子ブタの aortopulmonary shunt^{4,5)}や lamb の心室中隔欠損作製⁶⁾も行われ、肺動脈の器質的病変を伴う肺高血圧症モデルが作られている。特に犬で片側肺動脈結紮と aortopulmonary shunt を組み合わせると、より進行した肺動脈器質的病変ができる⁵⁾。本論文の小垣らの方法もこの組み合わせの一つであるが、ラットなどの小動物を使ったこのようなモデルは、技術的に難しく、報告も少ない。小垣らの論文は、この点価値あるものと思われる。

多くの実験動物は、neonate から adult の動物を使用しており、胎生期からの肺動脈の発達、分化との絡みを考慮したものは少ない。Reddy らは⁷⁾、今までの動物モデルのように、すでに生理的に肺血管抵抗が低下し、肺血管が分化してから誘因を作成するのではなく、胎生期の lamb で、aortopulmonary shunt を作り、より先天性心疾患による肺高血圧症に近いモデルを作成している。

僧帽弁狭窄症や総肺静脈還流異常症の様に肺静脈圧上昇に伴う肺高血圧モデルとしては、生直後のブタを使った肺静脈 banding があり、肺静脈性閉塞病変について病理学的、生化学的に詳しく調べられている⁸⁾。

(2) 低酸素性肺高血圧症モデル

一部気道の閉塞は、その部の低酸素による肺血管収縮を起こし、より換気のよい部分へ血流を移動させる。肺の部分的低酸素による肺血管収縮は生理的反応の一つでもある。しかし肺全体の低酸素状態は肺高血圧を発症する。特に牛は標高の高い高地で肺高血圧による右心不全を起こすと言われている。しかし同様に高地へ連れていかれる羊や犬の症状は軽度である。これは肺胞間に存在する collateral ventilation が動物種により差があるためとされている。末梢気道閉塞の際、collateral channel があると閉塞部の末梢も換気されるため、牛はこれが少ないとされている⁹⁾。他にブタやラットも高地では、肺高血圧になる傾向がある。実験室での低酸素 chamber を使うことを考えると、手ごろなラットが広く使われている。

(3) 薬物による肺高血圧症モデル

薬物投与による肺高血圧の代表的なものは、monocrotaline (MCT) 肺高血圧症である。豆科植物の *crotalaria spectabilis* を含んだ餌を与えた馬、牛が肺高血圧を発症することから発見された¹⁰⁾。この種子より抽出した MCT は、30~40 mg/kg の皮下注射で肺高血圧を発症するが、動物により差がある。ラット、マウス、ブタ、羊、犬、馬、サル、ハムスター等で観察されているが、40 mg/kg 程度で確実に発症するのはラットのみといわれている。MCT は肝臓のミクロソームで代謝され MCT pyrrole という代謝産物となって、これが直接肺血管内皮に傷害を与え肺高血圧を起こす。動物差は肝臓での代謝の差によると思われる。MCT pyrrole そのものは動物種差に関わりなく肺高血圧症を作成できるといわれている¹¹⁾。

(4) 肺塞栓による肺高血圧症モデル

臨床的には、外傷後に続く脂肪塞栓、鎌状赤血球症や敗血症などで、肺塞栓による肺高血圧症が起こる。モ

デル動物では羊やラットを用い, 空気, latex microsphere, lycopodium spore などによる微小肺塞栓子が使われている¹²⁾. 急性肺高血圧の原因は塞栓子による機械的な血流遮断に加え, 可逆的な血管収縮が関与している. 肺血管内皮との関わりから血小板より放出される各種血管作動物質(セロトニン, トロンボキサンなど)が関与している. さらに慢性的な肺塞栓子投与により preacinar muscular artery の中膜と内膜の肥厚が観察される¹³⁾.

B 肺高血圧症発症のメカニズム

(1) 肺血管内皮傷害

肺動脈は胎生 16 週までに, ほとんどの pre-acinar artery までの枝分かれが完成している. それ以降は肺胞の発達に合わせて, intra-acinar level の末梢肺動脈の枝分かれと平滑筋細胞の末梢肺動脈への進展が主体となる¹⁴⁾. しかし胎生後期になると, 血管細胞はその静止状態から, 再び外的傷害(hypoxia, 機械的刺激など)に対して, 血管組織の再構築(リモデリング)を始める可能性がある¹⁵⁾.

再構築の始まりは, 血管のバリアであり, 外的変化を検知するセンサーでもある肺動脈内皮の傷害である. 血管内皮への傷害は脂質二重層よりなる内皮細胞膜に変化を与え, 膜関連の酵素や運搬体に影響を与えることが知られている. 中でも正常膜電位維持に重要なイオンチャンネルを変化させ, カルシウムイオン依存性細胞内, 細胞間シグナル伝達に影響を与える¹⁶⁾. これは内皮細胞の形態変化と共に, 内皮と血球成分との親和性亢進もたらし, 内皮は血中の活性物質に暴露される. 内皮機能の恒常性の破綻は血管作動物質の動態(トロンボキサン, エンドセリン-1の産生増加, プロスタサイクリン, 一酸化窒素の産生低下)にも影響を与え, 多くの場合肺血管の収縮に傾く¹⁷⁾. また小垣らの本論文にもあるようにアンジオテンシン変換酵素もその発症に関与している¹⁸⁾. しかし血管作動物質の imbalance の継続は, 一連のシグナル伝達増幅で平滑筋細胞の形質転換へと導かれていく.

(2) シグナル伝達と SMC 形質転換¹⁷⁾

血管作動物質の多くは平滑筋細胞表面のレセプター(G protein linked)を介して一連のシグナル伝達を引き起こす. カルシウムイオン, サイクリック AMP, サイクリック GMP や脂質などが共通のメッセンジャーとして使われ, さらに多くのプロテインキナーゼ(protein kinase A, C)を活性化, 増幅する. このプロテインキナーゼは, 標的蛋白の serine/threonine 残基をリン酸化し, 標的蛋白を活性化させる. また内皮傷害時のイオンチャンネルの変化は細胞内カルシウムイオン濃度を上げ, シグナルとしての作用も発揮する. セカンドメッセンジャーとしてのカルシウムイオンは, protein kinase C などと関連し, さらにシグナルの増幅に関連している. これらのシグナル伝達の結果産生される蛋白の中には, エラスターゼ等の蛋白分解酵素や成長因子(basic fibroblast growth factor, b-FGF; transformig growth factor- β , TGF- β など), そのレセプターなどがあり, リガンドである成長因子によって平滑筋細胞の形質変換が起こると思われる. 形質変換により合成型となった平滑筋細胞は肥大や結合組織産生亢進により中膜肥厚の原因となる. さらに自ら産生するエラスターゼなどのプロテアーゼは, 内膜下への移動に関与するほか, 不活化状態で細胞外マトリックスに保存されている成長因子(basic FGF, TGF- β)を活性化し, 細胞増殖やさらなる結合組織産生亢進へ導き, 肺血管病変を完成させて行くと思われる.

C まとめ

肺高血圧症は, 原因のちがいはあれど, 基本的には, 肺血管内皮細胞への傷害に続く中膜と内膜の肥厚, そして肺細動脈閉塞が主体となっている. 恐らくいろいろな傷害を受ける内皮細胞は, 原因やその程度により多少の修飾はあるが, それをシグナル伝達として増幅, そして集約して平滑筋細胞の形質変換へ導くことが共通の経路としてあるのではないかと思われる. 小垣らによる本論文の中に見られるように, 肺高血圧モデル動物を使って, 病態生化学と病理学的所見との関連を解明するさらなる研究を期待するところである.

文 献

- 1) Davies P, McBride P, Murray GF: Structural changes in the canine lung and pulmonary arteries after pneumonectomy. *J Appl Physiol* 1982; 53: 859-864
- 2) Rabinovitch M, Konstam MA, Gamble WJ: Changes in pulmonary blood flow effect vascular response to chronic

- hypoxia in rats. *Circ Res* 1983 ; 52 : 432 441
- 3) Durmowicz AG, St Cyr JA, Clarke DR : Unilateral pulmonary hypertension as a result of chronic high flow to one lung. *Am Respir Dis* 1990 ; 142 : 230 233
 - 4) Rendas A, Lennox S, Reid L : Aortopulmonary shunts in growing pigs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1979 ; 77 : 109 118
 - 5) Blank RH, Muller WH, Damman JF : Experimental pulmonary hypertension. *Am J Surg* 1961 ; 101 : 143 153
 - 6) Boucek MM, Chang R, Synhorst DP : Hemodynamic consequences of inotropic support with digoxin and amrinone in lambs with ventricular septal defect. *Pediatr Res* 1985 ; 19 : 887 891
 - 7) Reddy VM, Meyrick B, Wong J, Khor A, Liddicoat JR, Hanley FL, Fineman JR : In utero placement of aortopulmonary shunts : A model of postnatal pulmonary hypertension with increased pulmonary blood flow in lambs. *Circulation* 1995 ; 92 : 606 613
 - 8) LaBourene JI, Coles JG, Johnson DJ : Alterations in elastin and collagen related to the mechanism of progressive pulmonary venous obstruction in a piglet model : a hemodynamic, ultrastructural and biochemical study. *Circ Res* 1990 ; 66 : 438 456
 - 9) 栗山喬之, 梶田 隆, 沢田晶夫, 渡辺昌平, Wagner WW, Latham LP, Horwitz LD : 肺高血圧症 . *日胸疾会誌* 1981 ; 19 : 820 825
 - 10) Heath D, Shaba J, Williams A, Smith P, Kombe A : A pulmonary hypertension-producing plant from Tanzania. *Thorax* 1975 ; 30 : 399 404
 - 11) Meyrick B, Gamble G, Reid L : Development of crotalaria pulmonary hypertension : hemodynamic and structural study. *Am J Physiol* 1980 ; 239 : H 692.
 - 12) 秋葉裕二, 中野 均, 長内 忍, 松本博之, 菊池健次郎 : 実験的微小肺塞栓の肺血管反応性に関する一酸化窒素の役割について . *日胸疾会誌* 1995 ; 33 : 1408 1414
 - 13) Perkett EA, Badesch DB, Roessler MK, Stenmark KR, Meyrick B : Insuline-like growth factor I and pulmonary hypertension induced by continuous air embolization in sheep. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992 ; 6 : 82 87
 - 14) Haworth SG : Pulmonary vascular disease in different types of congenital heart disease : Implications for interpretation of lung biopsy findings in early childhood. *Br Heart J* 1984 ; 52 : 557 571
 - 15) Majack RA : Extinction of autonomous growth potential in embryonic : adult vascular smooth muscle cell heterokaryons. *J Clin Invest* 1995 ; 95 : 464 468
 - 16) Janmey PA : Phosphoinositides and calcium as regulators of cellular actin assembly and disassembly. *Annu Rev Physiol* 1994 ; 56 : 169 191
 - 17) Stenmark KR, Mecham RP : Cellular and molecular mechanisms of pulmonary vascular remodeling. *Annu Rev Physiol* 1997 ; 59 : 89 144
 - 18) Clozel JP, Saunier C, Fischli W : Effects of cilazapril, a novel angiotensin converting enzyme inhibitor, on the structure of pulmonary arteries of rats exposed to chronic hypoxia. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991 ; 17 : 36 40
-