

課題番号 45

人工呼吸器関連新生仔肺傷害マウス及び胎児肺上皮細胞を用いた新生児慢性肺疾患の病態解明とマイクロRNAによる治療法開発

[1] 組織

代表者：宮崎 恭平
(福島県立医科大学小児科学講座)

対応者：久保 純
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：
佐藤 真紀 (福島県立医科大学小児科学講座)
柏原 祥曜 (福島県立医科大学小児科学講座)
前田 創 (福島県立医科大学小児科学講座)
郷 勇人 (福島県立医科大学小児科学講座)

研究費：物件費3千6百円、旅費9万6千4百円

[2] 研究経過

新生児慢性肺疾患(CLD)は未熟児の重篤な合併症の一つで、酸素暴露、人工呼吸管理や感染などによる肺傷害に関わるがその病態メカニズムは明らかでない。

個体を構成するほぼすべての細胞は、生命活動において常に機械的刺激(メカニカルストレス)を受けているが、各臓器のメカニカルストレスの受容については未だ不明な点が多い。本研究では、未熟肺にかかる過剰伸展によるメカニカルストレスを再現し、CLDの病態を解明することを目的とした。



細胞伸展刺激装置

以下、研究活動状況の概要を記す。

(打ち合わせ開催日、内容)

4月26-27日 東北大学で肺胞上皮細胞単離、ストレッチ、ディスカッション

6月26-27日 東北大学で肺胞上皮細胞単離、ストレッチ、ディスカッション

8月21-、24-25日 東北大学で肺胞上皮細胞単離、ストレッチ、ディスカッション

12月11、13-14日 東北大学で肺胞上皮細胞単離、ストレッチ、ディスカッション

2月20日 成果報告プレゼンテーション、今後の実験計画ディスカッション

(実験プロトコール)

妊娠17-18日のマウスから胎児肺胞上皮細胞を単離培養し、ストレッチチャンバーに培養した。120%伸展、2Hzの強度で24時間伸展刺激を加えた。細胞からRNAを抽出し、Clariom D microarray assaysを用いて網羅的遺伝子発現解析を行った。非伸展刺激細胞をコントロールとし、2倍以上または1/2以下の発現差があり、かつ $p < 0.05$ の基準に合致した遺伝子を抽出し、Ingenuity Pathway Analysis(IPA)を用いて、パスウェイ解析を行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、妊娠マウスからの胎児肺胞上皮細胞の単離培養し伸展刺激を加える実験系を確立した。

第2に、ストレッチ刺激をした細胞を観察すると伸展刺激方向と直交するように細胞が整列し、伸展刺激に対する細胞応答が組織学的に観察された。

さらに、細胞からtotal RNAを抽出し、網羅的遺伝子解析を行った。65,957遺伝子を解析し、非伸展刺激細胞に対し、777遺伝子で発現変化を認めた。福島県立医科大学看護学部の森努教授の協力を得て、遺伝子ネットワーク解析を行ったところ、炎症、細胞運動、細胞接着に関する遺伝子群が変化していることを確認した。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、学外研究者との交流が飛躍的に活性化し、肺胞上皮細胞メカニカルストレスモデルを用いた遺伝子ネットワーク解析プロジェクトに発展した。また、本共同研究で明らかになった網羅的遺伝子解析の成果は、CLD領域でのmicroRNAやnon coding RNAという新しい研究領域の開拓(萌芽的研究の発見)に結びつき、今後の発展が期待されている。

[4] 成果資料

(1) Gene network analysis in *in vitro* stretch-induced lung injury model. Kyohei Miyazaki, Hayato Go, Pediatric Academic Society meeting 2019, Baltimore, MD

上記演題名でアメリカ小児科学会にて発表予定で本共同研究成果を論文作成中である。