



2024年3月4日

日本医科大学

科学技術振興機構 (JST)

肺胞形成における血管の新たな役割を発見！ —血管内皮細胞は肺胞の形作りに必要な足場を作る—

研究の概要

日本医科大学先端医学研究所病態解析学部門の高野晴子講師、福原茂朋大学院教授を中心とした研究グループは、血管内皮細胞(*1)が肺胞の形作りを調節する、新たなメカニズムを発見しました。

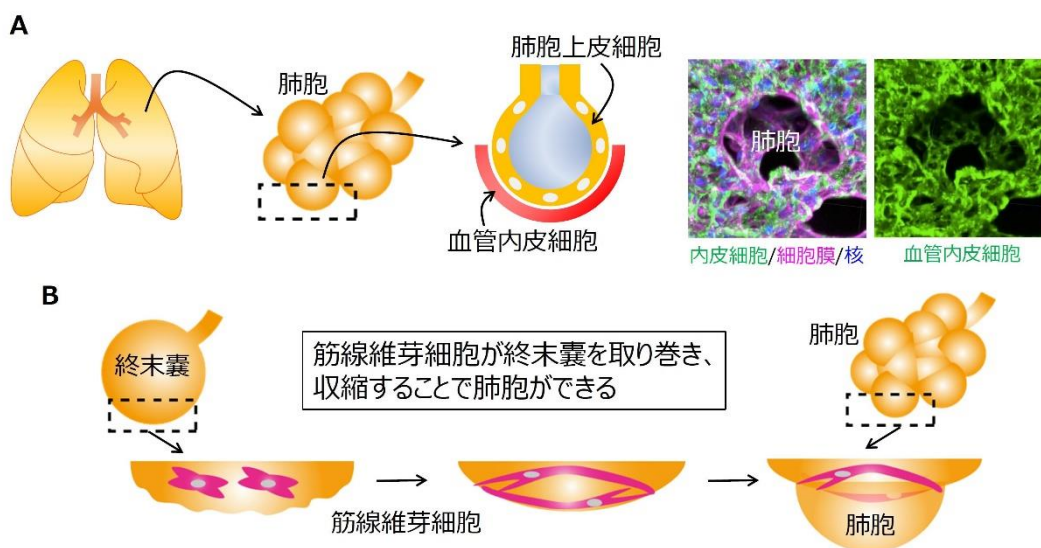
肺は、呼吸における酸素と二酸化炭素の交換を担う生命維持に欠かせない臓器であり、このガス交換を担う場が、「肺胞」です。肺胞は小さな袋状の構造をしており、内面を覆う肺胞上皮細胞(*2)とそれを裏打ちする血管内皮細胞が密に接着することで、肺胞内の空気と血液の間でのガス交換を可能としています(図1A)。肺には数億もの肺胞がありますが、重度の肺疾患では肺胞が破壊され呼吸が困難となり、死に至ることもあります。これまで、壊れた肺胞を効率的に再生させる方法は確立されておらず、その実現には肺胞という複雑な構造が作られる仕組みを理解する必要があります。

肺胞の形成には、強い収縮力(縮まる力)を持つ「肺胞筋線維芽細胞」(*3)が関与しています。成長期の肺では、筋線維芽細胞が終末囊(*4)と呼ばれる袋状の構造に巻き付き、収縮してくびれを作ることにより、肺胞が形成されると考えられています(図1B)。しかし、筋線維芽細胞の収縮や肺胞形成がいかに調節されているかについては未だ不明な点が多く残されています。今回、研究グループは、血管内皮細胞だけで *Rap1* 遺伝子(*5)を破壊したマウスの解析から、血管内皮細胞は、筋線維芽細胞の足場となる基底膜(*6)を形成することで、筋線維芽細胞による肺胞形成を制御していることを発見しました。そのメカニズムとして、血管内皮細胞は、*Rap1*(*5)によりインテグリン(*7)を活性化し、細胞外マトリックスであるIV型コラーゲンを集積することで、基底膜を形成すること、さらに、筋線維芽細胞がこの基底膜を足場とすることで収縮し、肺胞を形成することを見出しました。本研究成果は、肺胞形成における血管内皮細胞の新たな役割とその制御メカニズムを明らかにしたものであり、感染性呼吸器疾患や慢性閉塞性肺疾患などの難

治性の呼吸器疾患において、肺胞の再生を促す新しい治療法を生み出す可能性があります。

本研究成果は、英国科学誌「Nature Communications」に、2024年3月4日（月）（日本時間）にオンライン版で発表されます。

図1 肺胞の構造(A)と肺胞が形作られるメカニズム(B)



研究助成

本研究は、主に国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）創発的研究支援事業「血管内皮細胞を基軸としたメカニカルシグナルによる肺胞形成メカニズムの解明」（JPMJFR220T、研究代表者：高野晴子）、文部科学省科学研究費助成事業（21H02665、21K19358、23K18245、23K06325）、文部科学省科学技術人材育成費補助事業「ダイバーシティ研究環境実現イニシアティブ（女性リーダー育成型）」の支援を受けて実施されました。

研究の背景

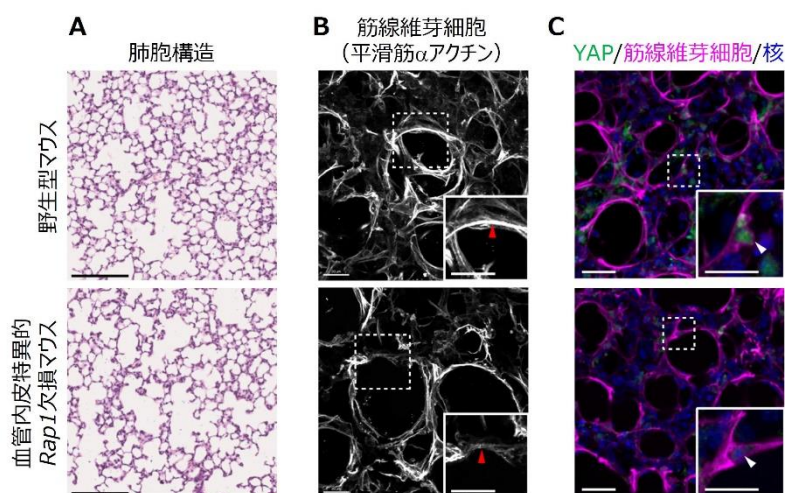
肺は、呼吸における酸素と二酸化炭素の交換を担う生命維持に欠かせない臓器であり、このガス交換を担う場が、「肺胞」です。肺胞は小さな袋状の構造をしており、その内面を覆う肺胞上皮細胞と裏打ちする血管内皮細胞が密に接着することにより、肺胞内の空気と血液の間的气体交換を担う空気-血液関門を形成しています（図 1A）。感染性呼吸器疾患や慢性閉塞性肺疾患などの難治性の呼吸器疾患では、肺胞が破壊され呼吸が困難となり、死に至ることもあります。しかし、壊れた肺胞を効率的に再生させる方法は、これまでに確立されておらず、その実現には複雑な構造を有する肺胞が形作られる仕組みを理解する必要があります。肺胞の形成には、強い収縮力を持つ「肺胞筋線維芽細胞」

が関与することが知られています。成長期の肺では、筋繊維芽細胞が終末嚢と呼ばれる袋状の構造に巻き付き、収縮することで、肺胞を形成すると考えられています(図 1B)。しかし、筋繊維芽細胞の収縮や肺胞形成のメカニズムについては不明な点が多く残されていました。特に、肺胞の血管内皮細胞の役割は全く明らかにされていませんでした。

研究の成果

低分子量 GTP 結合タンパク質の一つである *Rap1* は、細胞内のシグナル伝達に関わる分子で、細胞と細胞外マトリックスの接着を担うインテグリンを活性化します。今回、研究グループは、血管内皮細胞のみで *Rap1* 遺伝子を破壊した(血管内皮特異的 *Rap1* 欠損)マウスを作出し、同仔マウスでは肺胞形成が阻害されていることを発見しました(図 2A)。マウスの肺胞は、筋線維芽細胞が出生後直後の未熟な肺胞様構造である終末嚢にリング状に取り巻き、収縮することで分割し、作られると考えられています(図 1B)。血管内皮特異的 *Rap1* 欠損マウスでは、終末嚢胞を取り巻く筋繊維芽細胞は存在するものの、収縮力を発揮するのに必要なメカノトランスダクション(機械的なシグナル伝達系)が異常であり、肺胞が作られないことが分かりました(図 2B, C)。このことから、血管内皮細胞は筋繊維芽細胞の収縮とそれに伴う肺胞形成を制御していることが示されました。

図2 血管内皮細胞は筋線維芽細胞の収縮力を促進することで肺胞形成を制御する

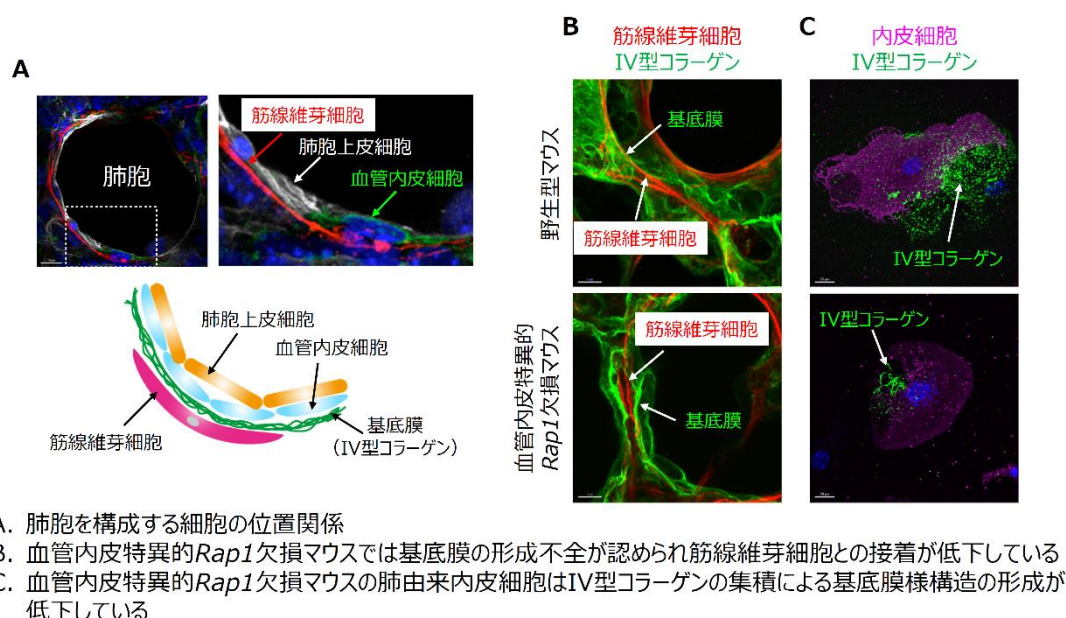


- A. 血管内皮特異的*Rap1*欠損マウスでは肺胞形成不全が認められる
- B. 血管内皮特異的*Rap1*欠損マウスの筋線維芽細胞では収縮に必要なアクチン繊維の形成が阻害されている
- C. 血管内皮特異的*Rap1*欠損マウスの筋線維芽細胞では収縮に必要なYAPの核内移行が阻害されている

次に、血管内皮細胞が筋線維芽細胞の収縮を制御するメカニズムを明らかにするために、肺胞の形成時における、これら細胞の位置関係を3次元組織染色法により調べました。すると、図 3A に示すように、肺胞(終末嚢)の内側から肺胞上皮細胞、血管内皮細胞が存在し、さらにその外側を筋繊維芽細胞が覆っていました。通常、血管では、内腔側を血管内皮細胞が覆い、その外側には基底膜が存在します。そこで、基底膜の構成成分

である IV 型コラーゲンを観察すると、野生型マウスでは血管内皮細胞と筋線維芽細胞は基底膜を介して密に接していたのに対し、血管内皮特異的 *Rap1* 欠損マウスでは、基底膜が正常に作られず、筋線維芽細胞と基底膜の接着異常が認められました (図 3B)。さらに、血管内皮細胞が基底膜の形成に関与するか知るため、肺胞形成時期の肺から取り出した血管内皮細胞をディッシュ (培養用容器) 上で培養し観察したところ、野生型マウス由来の血管内皮細胞は IV 型コラーゲンを集積し、基底膜様の構造を形成したのに対し、血管内皮特異的 *Rap1* 欠損マウスから取り出した血管内皮細胞では、IV 型コラーゲンの集積が低下しており、基底膜様の構造があまり形成されませんでした (図 3C)。このことから、血管内皮細胞は IV 型コラーゲンを集積し、筋線維芽細胞の足場となる基底膜を形成することで、筋線維芽細胞の収縮と肺胞形成を制御していることが示されました。

図3 血管内皮細胞は筋線維芽細胞に足場となる基底膜を提供しその収縮力を促進する

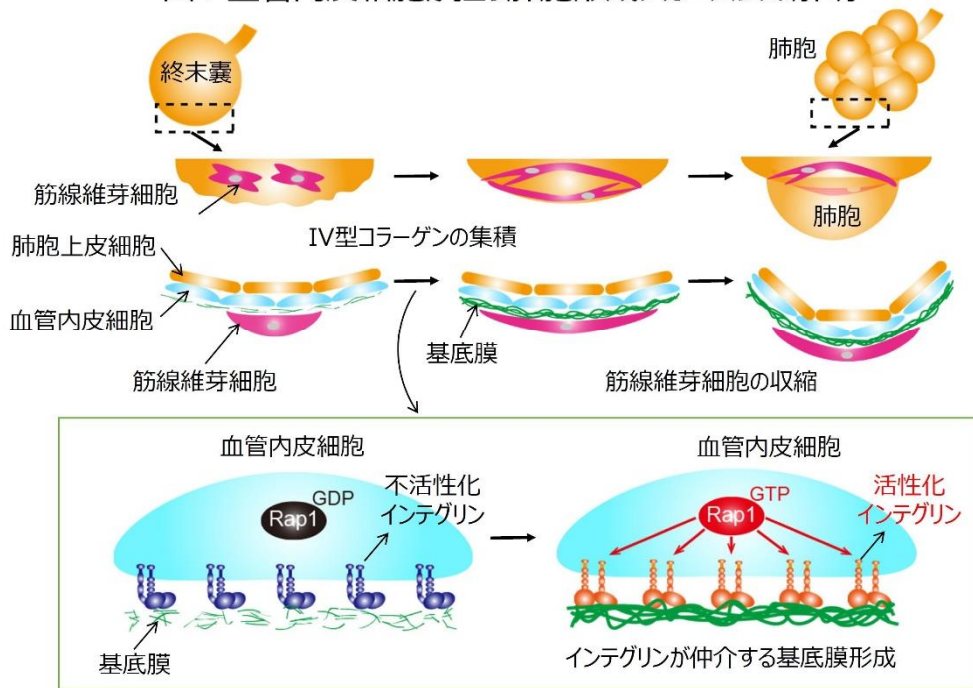


さらに、血管内皮細胞が筋線維芽細胞の足場となる基底膜を形成する仕組みについて研究しました。*Rap1* は、インテグリンを活性化することで細胞と細胞外マトリックスの結合を高めることが知られています。そこで、*Rap1* によって活性化したインテグリンが、IV 型コラーゲンを集積し、基底膜を形成しているのか調べることにしました。すると、血管内皮特異的 *Rap1* 欠損マウスの肺胞における血管内皮細胞では、野生型マウスに比べ、インテグリンの活性が低下していました。また、血管内皮特異的 *Rap1* 欠損マウスと同様に、血管内皮細胞でのみインテグリンを欠損したマウスでは、基底膜の形成不全により筋線維芽細胞が収縮できず、肺胞の形成が阻害されていました。このことから、血管内皮細胞は、*Rap1* 依存性にインテグリンを活性化し、IV 型コラーゲンを集積することで基底膜を形成すること、また、筋線維芽細胞は血管内皮細胞が作った基底膜

を足場として収縮力を発揮し、肺胞を形成していることが示されました（図4）。

以上の研究結果から、血管内皮細胞は、筋線維芽細胞の足場となる基底膜を形成することで、筋線維芽細胞の収縮力を高め、肺胞の形成を促進していることが明らかになりました。

図4 血管内皮細胞が担う肺胞形成メカニズムの解明



本研究成果の意義・今後の展開

本研究において、研究グループは、肺胞形成における血管内皮細胞の新たな役割を発見し、その制御メカニズムを解明しました。本研究成果は、肺胞を再生する技術の開発につながる可能性があります。感染性呼吸器疾患や慢性閉塞性肺疾患などの難治性の呼吸器疾患では、肺胞が破壊され呼吸が困難となり、死に至ることもあります。例えば、新型コロナウイルス感染症において重症化する患者さんの多くは、呼吸器疾患を発症することが知られています。しかし、一度壊れた肺胞を効率的に再生することができないことから、これら疾患を効果的に治療する方法は開発されていません。本研究成果をもとに、今後、肺胞を再生する技術が開発されれば、これら難治性の呼吸器疾患に対する革新的な治療法の開発につながることを期待されます。

また、本研究成果は機能的な肺胞オルガノイドの開発にもつながる可能性があります。オルガノイドとは臓器・組織を模倣した3次元構造体のことで、病気の原因解明や治療薬の探索に極めて有用です。これまでに肺胞上皮細胞からなる肺胞オルガノイドが作られています。しかし、ガス交換に必要な血管内皮細胞が含まれていませんでした。本研究成果

をもとに、肺胞上皮細胞と血管内皮細胞からなる機能的な肺胞オルガノイドが開発されれば、呼吸器疾患の原因解明や治療薬の開発に貢献する可能性を秘めています。

本研究成果は、血管の新たな機能を解明した点においても意義があります。近年の研究から、血管は単に血液を運搬する管ではなく、様々な生理活性物質を産生することで、周囲の細胞に働きかけ、臓器・組織の発生・再生、恒常性維持に寄与することが明らかにされてきました。本研究は、血管内皮細胞が、生理活性物質の産生を介さず、基底膜形成という自身の細胞機能を駆使することで、臓器の形態形成を制御できることを示した点で意義があります。

補足説明

*1 血管内皮細胞

血管の内腔面でシートを形成する扁平な薄い細胞で、血液と周囲の組織との間の細胞移動や、栄養素や老廃物、酸素や二酸化炭素などの物質交換を担っています。肺胞では、肺胞上皮細胞とともに、肺胞内の空気と血液の間のガス交換を可能としています。

*2 肺胞上皮細胞

肺胞には I 型肺胞上皮細胞と II 型肺胞上皮細胞が存在します。I 型肺胞上皮細胞は、扁平な形をして肺胞全体を覆うように存在し、血管内皮細胞とともに不要な二酸化炭素を排出し、酸素を取り込むガス交換を担います。一方で、II 型肺胞上皮細胞は肺サーファクタント（肺表面活性物質）を分泌して肺胞が潰れるのを防ぐ働きをしています。

*3 (肺胞) 筋線維芽細胞

筋線維芽細胞は組織の損傷時などに線維芽細胞などから分化し、細胞外マトリックスを盛んに分泌して、組織修復や再生などに関わると考えられています。平滑筋 α アクチンを発現し、収縮能力の高い細胞です。特に肺胞の形成時には血小板由来増殖因子受容体 α (PDGFR α) を発現する前駆線維芽細胞から分化し、その高い収縮能によって肺胞形成時のダイナミックな形態変化を主導すると考えられています。

*4 終末嚢

発生期に呼吸細気管支の末端にできる薄い拡張した袋状の構造で、原始的な肺胞と考えられています。ここに筋線維芽細胞が取り巻いて、分割されると成熟した肺胞ができるとされています。

*5 *Rap1* 遺伝子・Rap1

Rap1 遺伝子は、低分子量 G タンパク質に分類される Rap1 というタンパク質をコードする遺伝子です。低分子量 G タンパク質はグアノシン三リン酸(GTP)と結合すると活性化し、GTP を加水分解してグアノシンニリン酸(GDP)にすることで自身は不活性化型となります。それぞれの低分子量 G タンパク質には活性化した時に特異的に結合するタンパク質が存在し、分子スイッチとしての役割を果たします。Rap1 は GTP と結合して活性化すると、下流分子を介して細胞同士の接着やインテグリン複合体を活性化して、細胞-細胞外マトリックスとの接着を高めることが知られています。

*6 基底膜

基底膜は上皮細胞や内皮細胞などと結合組織との境界に形成される薄いシート状の特殊な膜で、ラミニンやIV型コラーゲンなどの細胞外マトリックスから構成されます。

*7 インテグリン

インテグリンは多様な細胞の細胞膜に存在する細胞接着因子で、細胞の増殖や生存、移動など様々な細胞機能に必須の役割を果たします。それぞれ α 鎖と β 鎖と呼ばれる二つのパーツから構成され、その組み合わせによって特異的な細胞外マトリックス（フィブロネクチン、ラミニン、コラーゲンなど）と結合します。インテグリン $\beta 1$ は主要な β 鎖の一つで、様々な α 鎖と会合することが知られており、会合する α 鎖に応じて特異的な細胞外マトリックスに結合します。

原論文情報

【論文タイトル】

Endothelial cells regulate alveolar morphogenesis by constructing basement membranes acting as a scaffold for myofibroblasts

【著者名】

Haruko Watanabe-Takano^{1,*}, Katsuhiko Kato², Eri Nakamura-Oguri¹, Tomohiro Ishii¹,
Koji Kobayashi³, Takahisa Murata³, Koichiro Tsujikawa⁴, Takaki Miyata⁴,
Yoshiaki Kubota⁵, Yasuyuki Hanada^{2,6}, Koichi Nishiyama⁶, Tetsuro Watabe⁷,
Reinhard Fässler⁸, Hiroataka Ishii⁹, Naoki Mochizuki¹⁰, Shigetomo Fukuhara^{1,*}
(*共同責任著者)

【所属】

¹Department of Molecular Pathophysiology, Institute of Advanced Medical Sciences,
Nippon Medical School, Japan

²Department of Cardiology, Graduate School of Medicine, Nagoya University, Japan

³Department of Animal Radiology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences,
University of Tokyo, Japan

⁴Department of Anatomy and Cell Biology, Graduate School of Medicine,
Nagoya University, Japan

⁵Department of Anatomy, Keio University School of Medicine, Japan

⁶Laboratory of Vascular and Cellular Dynamics, Department of Medical Sciences,
University of Miyazaki, Japan

⁷Department of Biochemistry, Graduate, School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University, Japan

⁸Department of Molecular Medicine, Max Planck Institute of Biochemistry, Germany

⁹Department of Anatomy and Neurobiology, Graduate School of Medicine,
Nippon Medical School, Japan

¹⁰Department of Cell Biology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute,
Japan

【雑誌名】

Nature Communications

【DOI】

10.1038/s41467-024-45910-y

【URL】

<https://www.nature.com/articles/s41467-024-45910-y>

研究に関するお問い合わせ

日本医科大学 先端医学研究所 病態解析学部門

大学院教授 福原 茂朋（ふくはら しげとも）

TEL: 03-5814-6903 FAX: 03-5814-6847

E-mail: s-fukuhara[at]nms.ac.jp

日本医科大学 先端医学研究所 病態解析学部門

講師 高野 晴子（たかの はるこ）

TEL: 03-3822-2131

E-mail: t-haruko[at]nms.ac.jp

報道に関するお問い合わせ

日本医科大学 先端医学研究所 事務室

〒113-8602 東京都文京区千駄木 1-1-5

TEL: 03-3822-2131 FAX: 03-5814-6827

E-mail: sentankenjimushitsu.group[at]nms.ac.jp

科学技術振興機構 広報課

〒102-8666 東京都千代田区四番町 5 番地 3

TEL: 03-5214-8404 FAX: 03-5214-8432

E-mail: jstkoho[at]jst.go.jp

JST 事業に関するお問い合わせ

科学技術振興機構 創発的研究推進部

東出 学信（ひがしで たかのぶ）

TEL: 03-5214-7276 FAX: 03-6268-9413

E-mail: souhatsu-inquiry[at]jst.go.jp