

ヘムオキシゲナーゼ¹欠損と全身性慢性炎症に対する 防御機構の破綻

著者	小泉 晶一
著者別表示	Koizumi Shoichi
雑誌名	平成19(2007)年度 科学研究費補助金 基盤研究(B) 研究成果報告書
巻	2005-2007
ページ	14p.
発行年	2008-03
URL	http://doi.org/10.24517/00051048



ヘムオキシゲナーゼ1欠損と全身性慢性炎症に 対する防御機構の破綻

(課題番号 17390298)

平成17年度～平成19年度科学研究費補助金(基盤研究(B))

研究成果報告書

平成20年3月

研究代表者 小 泉 晶 一

金沢大学附属図書館

(大学院医学系研究科 教授)



1300-04367-9

]

は し が き

ヘムオキシゲナーゼ (HO) はヘムをビリベルディン、遊離鉄、および一酸化炭素 (CO) に代謝する律速酵素である。HO-1 と HO-2 の2つのアイソザイムが存在することは比較的早くに知られており、最近 HO-3 も報告されている。HO-2 が脳、睾丸ほか全身に恒常的に発現しているのに対して、HO-1 は感染、低酸素などのストレス曝露により、肝脾など網内系に強く誘導発現されることから、生体に対する酸化ストレス防御因子として重要であると考えられていた。さらに HO-1 は CO を合成し、CO は微小循環を確保し、毛細血管内皮の保護とその機能恒常性の維持に重要な役割を演じていることが最近知られるようになった。したがって、本症例にみられた多彩な病態は、HO-1 欠損によって全身の血管内皮細胞が傷害され、ストレス防御機構が破綻した結果である可能性が高いと思われた。

近年、HO-1 に関する臨床的研究が進み、成人の血管炎、動脈硬化などの心、脳内血管病変や癌の浸潤、転移における血管新生、臓器移植における生着と拒絶などの病態の理解に意義深い物質と注目されてきている。

本研究の動機は、最近われわれが従来全く報告のない新しい疾患「ヘムオキシゲナーゼ 1 (HO-1) 欠損症」の症例を発見したことに端を発する。世界最初の症例である (Yachie, et al: J Clin Invest 103: 129, 1999)。患児は2歳頃から、反復する発熱、白血球増多、関節炎を伴う慢性炎症、肝腫大、赤ワイン色血清、赤血球破砕を伴う溶血性貧血を認め、さらに凝固、線溶系データの異常高値、フォンウイルブランド因子、トロンボモデュリン、血管内皮由来サイトカインの高値から毛細血管内皮細胞障害が疑われた。腎生検の電顕像では、血管内皮の剥離と異常物質の沈着が認められた。高血圧も認め、6歳で頭蓋内出血で死亡した。

本症例では重篤な溶血が存在するにもかかわらず、低ビリルビン血症、高ハプトグロビン血症がみられることから、ヘム代謝の異常が疑われ、HO-1 欠損症の発見に繋がった。

以上のような背景を基に、本研究では、以前の平成11年度～12年度における基盤研究 (B2) (課題番号 11470170) 及び平成13年度～14年度における基盤研究 (B2) (課題番号 13470160) に継続して、世界に一例しか存在しない HO-1 欠損症から多くを学びながら、HO-1 の持つ多面的な生理学的意義を追求した。このように本研究は新しく発見された疾患から出発した萌芽的研究であり、従来のヘム代謝、CO 代謝の理解のみならず、造血系細胞の機能、腎疾患、さらに新しい血管炎の概念の構築や血管新生など、極めて広範囲な臨床医学的、基礎生理学的研究領域の展開に大きな波及効果をもたらし、学術研究における先導的意義を有すると考えられる。

研究組織

研究代表者	小泉 晶一	金沢大学大学院医学系研究科教授
研究分担者	笠原 善仁	金沢大学大学院医学系研究科准教授
研究分担者	太田 和秀	金沢大学医学部附属病院講師
研究分担者	犀川 太	金沢大学医学部附属病院講師
研究分担者	太田 邦雄	金沢大学医学部附属病院講師
研究分担者	新井田 要	金沢大学医学部附属病院講師

交付決定額 (配分額)

(金額単位: 千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成17年度	9,100	0	9,100
平成18年度	3,400	0	3,400
平成19年度	2,900	870	3,770
総計	15,400	870	16,270

研究発表

(1) 「ヘムオキシゲナーゼ1欠損症の発見」に関するこれまでの論文すべてを列記する。

- ヘムオキシゲナーゼ1欠損症の発見. 鉄代謝および酸化ストレスによる血管内皮傷害とその防御に関する研究の新しい展開.
小泉晶一
日本小児科学会雑誌 102(12):1267-1270、1998
- Oxidative stresses causes enhanced endothelial cell injury in human heme oxygenase-1 deficiency.
Yachie A、 Niida Y、 Wada T、 Igarashi N、 Kaneda H、 Toma T、 Ohta K、 Kasahara Y、 Koizumi S.
Journal of Clinical Investigation 103: 129-135、 1999
- 尿細管上皮細胞における heme oxygenase-1 機能の重要性.
太田和秀、谷内江昭宏、小泉晶一
日本小児腎臓病学会誌 12(2): 119-126、 1999
- ヘムオキシゲナーゼ1欠損症1家系における遺伝子異常ならびに細胞傷害機構の解析.
金田 尚
金沢大学十全医学会雑誌 108(1):91-102、1999

5. ヘムオキシゲナーゼ 1 欠損症発見の意義.
小泉晶一
日本醫事新報 3945:105、 1999
6. Heme oxygenase-1 欠損症と全身性血管内皮傷害：世界第 1 例目の報告.
谷内江昭宏
医学のあゆみ 188(13): 1129-1130、 1999
7. ヘムオキシゲナーゼ 1 欠損症 -新しい血管炎の概念-
谷内江昭宏、小泉晶一
第 114 回日本医学会シンポジウム記録集 1999 81-89、 1999
8. Tubular injury as a cardinal pathological feature in human heme oxygenase-1 deficiency.
Ohta K、 Yachie A、 Fujimoto K、 Kaneda H、 Wada T、 Toma T、 Seno A、 Kasahara Y、 Yokoyama H、 Seki H、 Koizumi S.
American Journal of Kidney Diseases 35(5): 863-870、 2000
9. ヒト heme oxygenase-1 欠損症とその腎病変.
太田和秀
医学のあゆみ 193: 47-52、 2000
10. Structural evidence of genomic exon-deletion mediated by Alu-Alu recombination in a human case with heme oxygenase-1 deficiency.
Saikawa Y、 Kaneda H、 Yue L、 Shimura S、 Toma T、 Kasahara Y、 Yachie A、 Koizumi S.
Human Mutation 16(2): 178-179、 2000、 Mutation in Brief #351、 2000、 in Online
11. Heme oxygenase-1 欠損症の遺伝子解析：Alu-Alu 再構成によるエクソン 2 の完全欠損.
岳 麗杰、犀川 太、金田 尚、谷内江昭宏、小泉晶一
日本小児血液学会雑誌 14(6): 372-377、 2000
12. Heme oxygenase 1 欠損症の発見.
谷内江昭宏
Medical Technology 29(1): 19-20、 2001
13. ヘムオキシゲナーゼ 1 欠損症.
谷内江昭宏、小泉晶一
日本臨床、別冊、領域別症候群シリーズ No.33、先天異常症候群辞典（上巻）
p796-797、 2001
14. 酸化ストレス細胞障害に対するヘムオキシゲナーゼ 1 (HO-1)の機能的意義と HO-1 欠損症に対する遺伝子治療の基礎的検討.
笠原善仁、和田泰三、東馬智子、丸箸圭子
母子健康協会、第 12 回医学助成研究報告書 P17-18、 2001
15. 末梢血単球による選択的ヘムオキシゲナーゼ 1 産生とその機能的意義.

- 市村昇悦
金沢大学十全医学会雑誌 110 (5、6): 327-338、 2001
16. Cytoprotective role of heme oxygenase (HO) -1 in human kidney with various renal diseases.
Morimoto K、 Ohta K、 Yachie A、 Yang Y、 Shimizu M、 Goto C、 Toma T、 Kasahara Y、 Yokoyama H、 Miyata T、 Seki H、 Koizumi S.
Kidney International 60 (5): 1858-1866、 2001
17. Role of heme oxygenase-1 in cardiovascular diseases: a novel target for molecular intervention?
Ohta K、 Yachie A.
Journal of Endovascular Therapy 8: 444-446、 2001
18. ヘムオキシゲナーゼ 1 欠損症の発見: 血管内皮傷害病態の解明と遺伝子治療の基礎的研究.
小泉晶一
平成 11 年度～平成 12 年度科学研究費補助金 (基盤研究 B2) 研究成果報告書
2001 年 (平成 13 年) 3 月
19. ヘムオキシゲナーゼ 1 欠損症の発見: その病態の生化学的、分子生物学的解析.
小泉晶一
平成 11 年度～平成 12 年度科学研究費補助金 (萌芽的研究) 研究成果報告書
2001 年 (平成 13 年) 3 月
20. Human HO-1 deficiency and cardiovascular dysfunction. In carbon monoxide and cardiovascular functions.
Yachie A、 Kawashima A、 Ohta K、 Saikawa Y、 Koizumi S.
Edited by Dr. R. Wang、 CRC Press、 2002、 pp181-212
21. Heme oxygenase-1 deficiency : the first autopsy case.
Kawashima A、 Oda Y、 Yachie A、 Koizumi S、 Nakanishi I.
Human Pathology 33(1): 125-130、 2002
22. 尿細管間質障害防御因子としての HO-1.
藤本佳代子、太田和秀、楊永紅、谷内江昭宏、小泉晶一
小児科 43 (2): 163-171、 2002
23. Gene transfection of H25A mutant heme oxygenase-1 protects cells against hydroperoxide-induced cytotoxicity.
Hori R、 Kashiba M、 Toma T、 Yachie A、 Goda N、 Mikino N、 Soejima A、 Nagasawa T、 Nakabayashi K、 Suematsu M.
Journal of Biological Chemistry 277(12): 10712-10718、 2002
24. Human heme oxygenase (HO) -1 deficiency and the oxidative injury of vascular endothelial cells. In Heme oxygenase in biology and medicine.
Yachie A、 Toma T、 Shimura S、 Yue L、 Morimoto K、 Maruhashi K、 Niida

- Y, Ohta K, Kasahara Y, Saikawa Y, Koizumi S.
Edited by Abraham NG, Alam J, and Nath K., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2002, pp325-pp334
25. ヘムオキシゲナーゼ 1 欠損症から学ぶもの.
谷内江昭宏
日本小児科学会雑誌 106(10):1380-1389, 2002
 26. Pro-oxidant and cytotoxic effects of circulating heme.
Jeney V, Balla J, Yachie A, Varga Z, Vercellotti GM, Eaton JW, Balla G.
Blood 100: 879-887, 2002
 27. Heme oxygenase -1 production by peripheral blood monocytes during acute inflammatory illnesses of children.
Yachie A, Toma T, Mizuno K, Okamoto H, Shimura S, Ohta K, Kasahara Y, koizumi S.
Experimental Biology and Medicine (Maywood) 228 (5) : 550-556, 2003
 28. Selective protection of renal tubular epithelial cells by heme oxygenase (HO) -1 during stress-induced injury.
Yang Y, Ohta K, Shimura M, Morimoto K, Goto C, Nakai A, Toma T, Kasahara Y, Yachie A, Seki H, Koizumi S.
Kidney International 64 : 1302-1309, 2003
 29. Haem, haem oxygenase and ferritin in vascular endothelial cell injury.
Balla J, Vercellotti GM, Nath K, Yachie A, Nagy E, Eaton JW, Balla G.
Nephrology Dialysis Transplantation 18 (Suppl 5) : v8-v12, 2003
 30. ヘムオキシゲナーゼ 1 (HO-1)の多面的生理学的意義:HO-1 欠損症からの学習.
小泉晶一
平成 13 年度ー平成 14 年度科学研究費補助金 (基盤研究 B2) 研究成果報告書
2003 年 (平成 15 年) 3 月
 31. ヒトヘムオキシゲナーゼ 1 欠損症.
谷内江昭宏
小児科臨床 57(3):469-474, 2004
 32. 小児肺高血圧症における肺組織ヘムオキシゲナーゼ 1 発現の特徴.
中村奈美
金沢大学十全医学会雑誌 113(1):23-33, 2004
 33. Paradoxical enhancement of oxidative cell injury by overexpression of heme oxygenase-1 in an anchorage-dependent cell ECV304.
Maruhashi K, Kasahara Y, Ohta K, Wada T, Ohta K, Nakamura N, Toma T, Koizumi S, Yachie A.
Journal of Cellular Biochemistry 93: 552-562, 2004
 34. Development of vascular biology over the past 10 years : Heme oxygenase-1 in

cardiovascular homeostasis.

Ohta K、 Yachie A.

Journal of Endovascular Therapy 11(Suppl II): II-140 - II-150、 2004

35. ヒト腎組織における部位特異的へムオキシゲナーゼ1 遺伝子発現の特徴とその臨床的意義.

清水正樹

金沢大学十全医学会雑誌 113(3、4) 117-125、 2004

36. 気道炎症制御とへムオキシゲナーゼ、CO.

谷内江昭宏

アレルギー・免疫 12: 772-778、 2005

37. Glomerular proteinuria induces heme oxygenase-1 gene expression within renal epithelial cells.

Shimizu M、 Ohta K、 Yang Y、 Nakai A、 Toma T、 Saikawa Y、 Kasahara Y、 Yachie A、 Yokoyama H、 Seki H、 Koizumi S.

Pediatric Research 58: 666-671、 2005

38. Selective expansion of CD16high CCR2- subpopulation of circulating monocytes with preferential production of haem oxygenase (HO)-1 in response to acute inflammation.

Mizuno K、 Toma T、 Tsukiji H、 Okamoto H、 Yamazaki H、 Ohta K、 Ohta K、 Kasahara Y、 Koizumi S、 Yachie A.

Clinical and Experimental Immunology 142: 461-470、 2005

39. Heme、 heme oxygenase and ferritin in vascular endothelial cell injury.

Balla J、 Vercellotti GM、 Jeney V、 Yachie A、 Varga Z、 Eaton JWE、 Balla G. Molecular Nutrition & Food Research 49:1030-1043、 2005.

40. Oxidation of hemoglobin by lipid hydroperoxide associated with low-density lipoprotein (LDL) and increased cytotoxic effect by LDL oxidation in heme oxygenase-1 (HO-1) deficiency.

Nagy E、 Jeney V、 Yachie A、 Szabo RP、 Wagner O、 Vercellotti GM、 Eaton JW、 Balla G、 Balla J.

Cellular Molecular Biology 51: 377-385、 2005.

41. へムオキシゲナーゼ1 産生抑制による単球機能の調節と炎症治療戦略の開発.
谷内江昭宏

平成16年度～平成17年度科学研究費補助金(基盤研究C) 研究成果報告書
2006年(平成18年)3月

42. 観察、発見、挑戦の小児医学・小児医療-へムオキシゲナーゼ(HO)-1欠損症発見からセレンディピティを学ぶ-第109回日本小児科学会学術集会会頭講演

小泉晶一

日本小児科学会雑誌 110(8):1073-1081、2006

43. Heme oxygenase-1.

太田和秀

腎と透析 61(5): 595-597、2006

44. ヘムオキシゲナーゼと生体防御機構；抗炎症治療のパラダイムシフト

谷内江昭宏

日本臨床免疫学会会誌 30(1): 11-21、2007

45. Human heme oxygenase-1 deficiency: A lesson on serendipity in the discovery of the novel disease.

Koizumi S.

Pediatrics International 49(2):125-132、2007

46. Corticosteroid enhances heme oxygenase-1 production by circulating monocytes by up-regulating hemoglobin scavenger receptor and amplifying the receptor-mediated uptake of hemoglobin-haptoglobin complex.

Yamazaki H、Ohta K、Tsukiji H、Toma T、Hashida Y、Ishizaki A、Saito T、Arai S、Koizumi S、Yachie A.

Biochem Biophys Res Commun 358(2): 506-512、2007

(2) 学会発表：HO-1に関する国際学会における発表のみを記載する

1st International Symposium on Heme Oxygenase (HO/CO)

New York Marriott - World Trade Center、

New York City、July 14 - 17、2000

• Oral Presentation

1. HO-1 expression by gene transfer reverses hemin-induced cell injury of lymphoid cell lines derived from a HO-1 deficient patient.

A. Yachie、T. Toma、S. Shimura、K. Ohta、Y. Kasahara and S. Koizumi

2. What did we learn from the first case of human heme oxygenase-1 deficiency?

A. Yachie、Y. Niida、T. Toma、S. Shimura、K. Ohta、K. Fujimoto、C. Goto、Y. Kasahara and S. Koizumi

Acta Haematol 103(suppl 1): 82、2000

3. Differential role of heme oxygenase-1 (HO-1) in protection from endothelial cell death.

K. Maruhashi、Y. Kasahara、T. Toma、S. Sakazume、A. Yachie and S. Koizumi

Acta Haematol 103(suppl 1): 82、2000

• Poster Session

4. Role of heme oxygenase-1 and bcl-2 in protection of hematopoietic cell lines from hemin-induced cell injury.

- A. Yachie, T. Toma, S. Shimura, K. Ohta, Y. Kasahara and S. Koizumi
Acta Haematol 103(suppl 1): 82, 2000
5. Monocyte specific induction of heme oxygenase-1 production and its clinical relevance.
T. Toma, S. Shimura, K. Ohta, Y. Kasahara, A. Yachie and S. Koizumi
Acta Haematol 103(suppl 1): 82, 2000
6. Renal pathology of human heme oxygenase-1 (HO-1) deficiency and important roles of HO-1 in the human kidney.
K. Fujimoto, K. Ohta, A. Yachie, C. Goto, S. Shimura, T. Toma, A. Seno, Y. Kasahara and S. Koizumi
Acta Haematol 103(suppl 1): 80, 2000
7. Structural evidence of genomic exon-deletion mediated by *Alu-Alu* recombination in a human case with heme oxygenase-1 deficiency.
S. Koizumi, Y. Saikawa, H. Kaneda, L. Yue, S. Shimura, T. Toma, Y. Kasahara and A. Yachie
Acta Haematol 103(suppl 1): 85, 2000

2nd International Conference on Heme Oxygenase (HO/CO)

Baia Verde Hotel, Catania, Sicily, Italy,

June 6-9, 2002

• Oral presentation

8. Heme Oxygenase-1 deficiency; a disease of monocyte dysfunction.
A. Yachie, T. Toma, N. Nakamura, K. Ohta, K. Morimoto, K. Ohta, Y. Saikawa, Y. Kasahara and S. Koizumi

• Poster Session

9. Heme Oxygenase-1 production by peripheral blood monocytes in acute febrile illnesses.
T. Toma, H. Maeba, R. Nishimura, K. Ohta, Y. Kasahara, A. Yachie and S. Koizumi
10. Characteristics of heme oxygenase-1 production within the lung tissue in childhood pulmonary hypertension.
N. Nakamura, T. Toma, K. Ohta, S. Sakazume, K. Ohta, Y. Kasahara, A. Yachie and S. Koizumi
11. Selective protection of renal tubular epithelial cells by heme oxygenase-1 during stress-induced injury.
K. Ohta, Y. Yang, M. Shimizu, T. Toma, Y. Kasahara, A. Yachie and S. Koizumi

5th International Congress Heme Oxygenases 2007

Krakow, Poland

2007、 9、 5-9、

• Oral presentation

12. The first case of human HO-1 deficiency; its clinical profiles as a disease of immune dysregulation. Yachie A.

• Poster Session

13. HO-1 production by urinary tract cells and evaluation of tubulointerstitial injury of the kidney: immunohistochemical and EIA analysis of urinary sediments.
Yachie A、 Yokoyama T、 Yuno T、 Ohta K、 Koizumi S.

36th Annual Scientific Meeting of the ISEH-Society for Hematology and Stem Cells.

Hamburg, Germany

2007, 9, 28~30,

• Poster Session

14. Heme oxygenase (HO)-1 and hematopoiesis : a lesson from the first human case of HO-1 deficiency.
Koizumi S, Yachie A, Kasahara Y, Saikawa Y, Niida Y, Yoma T, Ohta Ka, Ohta Ku.

研究成果

HO-1 欠損症発見の経緯から現在に到る本研究の研究成果の概略を以下に記載する。詳細は論文の別冊を参照されたい。

世界初の本疾患発見に到る経緯

- 1) HO-1 に対する単クローン抗体を用いて生検肝組織の免疫組織染色を実施したところ、患児肝では HO-1 が全く染色されなかった。HO-2 は正常に染色された。
- 2) 患児末梢血細胞より EBV 芽球化細胞株 (LCL) を樹立し、それを用いてウエスタンブロッティング法を実施したところ、HO-2 は対照と同等に発現がみられたが、HO-1 蛋白はカドミウムや亜ヒ酸、ヘミンによるストレス刺激後でも全く発現がみられなかった。
- 3) HO-1 mRNA は PCR 法により、その発現が確認された。
- 4) 患児および両親の HO-1 遺伝子解析から、母親アレルにエクソン 2 の欠損、父親アレルではエクソン 3 に 2 塩基欠損があることがわかり、患児はその複合ヘテロ接合体であることが知れた。
- 5) さらに母親の染色体遺伝子を詳細に解析したところ、エクソン 2 を含む 1、730bp におよぶ大きな欠損が証明された。そして、エクソン 2 は Alu くり返し配列

には含まれる構造であることが知れ、本例のエクソン2欠損は Alu くり返し配列の相対的組み換えによる配列欠失の可能性が示唆された。

6) 以上より、本例は HO-1 欠損症と診断され、本疾患の発見と存在が確認された。

HO-1 欠損と単球の障害

7) 本症例の患児末梢血では単球の形態異常が著しく、また、患児の単球では細胞接着や食食に関与する CD36、CD14、CD16 表面抗原が低下していた。そのことが、食食能の低下などの機能障害を惹起しているものと思われた。

8) 正常ヒト末梢血単核細胞を、単球、リンパ球 (T、B 細胞) に画分し、それぞれの細胞画分で HO-1 蛋白発現をフローサイトメトリー法みると、HO-1 発現は正常単球で強く、T 細胞では逆に弱く、細胞系特異的な HO-1 発現調節機構の存在が示唆された。このことはウエスタン法でも確認された。単球は種々の感染症病態と深く関わっているため、種々の細菌性、ウイルス感染症、および血管性病変 (川崎病など) における血液細胞の HO-1 発現状態を比較検討した。種々の感染症の病態および感染症の時間的経過を追って観察すると、HO-1 発現に変動がみられた。

9) 単球をさらに詳細に分画すると、CD16^{high}/CCR2^{negative} 細胞亜群に属する細胞が少数ながら明らかに存在し、この細胞亜群は HO-1 を強く発現していることが認められた。この細胞亜群は川崎病やインフルエンザなどで増加しており、HO-1 を強く発現するとともに、IL-6 や TNF- α を産生して、炎症に対する防御機構の一端を担っているものと考えられた。

HO-1 欠損と腎の障害

10) 本症例における腎病変を2度の腎生検材料と剖検材料を用いて検討したが、特に、尿細管におけるダメージが時間の経過とともに増悪した。電顕では血管内皮の剥離と異常物質の沈着が認められた。

11) 各種腎疾患における HO-1 発現を生検材料の免疫組織染色法でさらに検討した結果では、ストレスがさほど重篤でないと思われる小児ネフローゼ症候群においても腎尿細管における HO-1 発現は著しく、腎尿細管には生理的にも常にストレスがかかっていると推察された。また、近位尿細管における HO-1 発現が、尿蛋白や血尿と有意に相関していた。

12) 各種腎疾患生検材料を用い in situ hybridization 法で HO-1 mRNA を、免疫染色法で HO-1 蛋白発現を検討したところ、近位、遠位いずれの尿細管にも発現が認められるが、近位尿細管に比して遠位尿細管で有意に HO-1 mRNA および HO-1 蛋白発現が強いことが知れ、それは蛋白尿の程度と相関していた。HO-1 は尿細管におけるストレス防御に深く関わっていると思われた。

13) これらの結果を基に、初代培養系の数種のヒト近位尿細管上皮細胞株とメサンギウム細胞株を準備し、腎組織のストレス抵抗性と HO-1 発現を in vitro で解析した。酸化ストレスに対していずれの細胞株でも HO-1 の有意な発現を認めたが、

その発現には時間的ずれがあった。また、近位尿細管上皮細胞株に、より強い HO-1 産生が認められた。このことは、HO-1 は腎では特に尿細管上皮のストレス防御に有効に働いているものと思われた。

その他の組織と HO-1 欠損

1 4) HO-1 は CO 産生を介して肺高血圧症の病態に関与している可能性がある。本研究では、先天性心疾患に伴う肺高血圧症例や後天性の血管炎による肺高血圧症例における肺組織内の HO-1 発現を免疫組織染色、およびリアルタイム PCR 法を用いて検討した。HO-1 欠損症では HO-1 産生は全く観察されなかったが、正常肺では、肺泡マクロファージや気道上皮に HO-1 産生が認められた。血管炎に伴う肺高血圧症では、気道上皮、肺泡マクロファージの HO-1 発現は増強し、さらに、気道周囲や肺動脈壁に浸潤するマクロファージに強い HO-1 産生が観察された。一方、原発性肺高血圧症では HO-1 産生の増強は認められなかった。先天性心疾患の心室中隔欠損症 (VSD) では、肺高血圧を伴う例で肺組織の HO-1 mRNA 発現量が高かった。HO-1 遺伝子プロモーター領域の GT 反復配列には有意差を認めなかった。以上より、肺における HO-1 産生は日常的ストレスを反映しており、HO-1 がストレス防御と肺組織の機能恒常性維持に重要であることが示唆された。肺高血圧症においては、その成因により HO-1 の病態への関与が異なる可能性が示された。

1 5) 単球等細胞表面にはヘモグロビン Hb/ハプトグロビン Hp コンプレックスを補足する CD163 分子が存在し、Hb/Hp/CD163 結合が HO-1 を誘導すると考えられる。先天性心疾患手術時においては、ハプトグロビンを投与した患者群で単球中 HO-1 mRNA 発現が強く、さらに *in vitro* 研究では、ステロイドを添加すると単球の CD163 の発現が有意に上昇し、HO-1 発現も増強されることがわかった。

HO-1 遺伝子導入などに関する研究

1 6) 遺伝子治療にむけての基礎的研究では、正常 HO-1 遺伝子を含むレトロウイルスベクターを作成し、患児 LCL 細胞株への遺伝子導入に成功し、蛋白発現を *in vitro* で確認した。ただしこの場合は HO-1 発現は恒常的で、生理的にみられるようにストレス誘導性ではなかった。

1 7) 血管内皮細胞と HO-1 の関係を *in vitro* で検討するため、細胞株 ECV304 に HO-1 遺伝子をレトロウイルスベクターを用いてトランスフェクトし、HO-1 蛋白発現量が異なる細胞株を 10 種類程度えた。ただしこの HO-1 発現は恒常的で、生理的にみられるようなストレスで誘導されるものではなかった。低-中等度 HO-1 蛋白発現株では、ヘミンや過酸化水素などのストレスを負荷すると細胞障害の抑制が認められたが、高度 HO-1 蛋白発現株では、逆に細胞障害の増強がみられた。このことは、HO-1 蛋白発現量が多すぎても、決して防御的には働かず、HO-1 高発現は、かえって血管障害を増悪する可能性を示唆した。将来の遺伝子治療において、HO-1 遺伝子発現を恒常的ではなく、生理的なストレス誘導性とする必要があるこ

とを示唆した。

今後の展望と疾患スクリーニング

18) HO-1 欠損症は未だ1例しか発見されていない。本疾患の多様性を理解するためにも、第2例目、第3例目を発見する必要がある。慢性炎症性や溶血をともなう多くの症例をスクリーニングし、末梢血単球や LCL 細胞株を用いたフローサイトメトリー法により HO-1 産生を定量的に測定しているが、まだ第2例目はみつからない。今後もこの方法でスクリーニングを継続する。

