

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08037

研究課題名(和文) RAGE-aptamer封入ナノ粒子による肺高血圧症の新規治療法の開発

研究課題名(英文) Development of new treatments with RAGE-aptamer-incorporated nanoparticles for pulmonary arterial hypertension

研究代表者

中村 一文 (Nakamura, Kazufumi)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：10335630

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：1.肺高血圧モデルラットにおけるRAGE特異的 DNA aptamerの抑制効果：モノクロタリン誘発性肺高血圧症モデルラットにおいてモノクロタリンと同時に終末糖化産物受容体RAGE特異的 DNA aptamerの持続皮下注を行ったところ、肺高血圧症と肺動脈リモデリングの発生抑制効果を認めた。
2.肺動脈性肺高血圧症患者の肺動脈平滑筋細胞におけるRAGE特異的 DNA aptamerの増殖抑制効果：血小板由来増殖因子刺激による増殖亢進をRAGE特異的DNA aptamerは有意に抑制した。
上記よりRAGE特異的 DNA aptamerの肺高血圧症発症の抑制作用が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々を含めRAGEシグナルがPAHの病態に関与すると報告しているがRAGEシグナル抑制による治療法はまだ開発されていない。今回肺高血圧症にてRAGE特異的 DNA aptamerの有効性をしめし、RAGEシグナル抑制という世界初の治療法の開発につながる研究である。将来的に患者の予後改善・QOLの向上にもつながる日本発の治療法として発展することを期待される。

研究成果の概要(英文)：1. Inhibitory effects of RAGE-aptamer on development of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats.: Continuous subcutaneous delivery of RAGE-aptamer suppresses development of monocrotaline-induced PAH in rats. Inhibition of RAGE ameliorates muscularization of small pulmonary arteries. Treatment with RAGE-aptamer might be a new therapeutic option for pulmonary arterial hypertension (PAH).
2. Inhibitory effects of RAGE-aptamer on proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells (PASMCS) from patients with PAH: RAGE plays a crucial role in the inappropriate increase of PAH-PASMCS. Inhibition of RAGE signaling using RAGE aptamer inhibited the inappropriate increase of PAH-PASMCS.

研究分野：循環器内科学

キーワード：肺高血圧症 終末糖化産物受容体 RAGE 血小板由来増殖因子 肺動脈平滑筋細胞 S100A8/A9蛋白 DN A-aptamer モノクロタリン誘発性肺高血圧症

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺動脈性肺高血圧症(pulmonary arterial hypertension: PAH)の予後改善のためには、効果的かつ簡便・安全な新規治療法の開発が望まれている。現在の肺血管拡張薬のみならず、肺動脈の細胞の過剰増殖・アポトーシス抵抗性・異常遊走・炎症による血管リモデリングを制御する治療法が必要である。終末糖化産物受容体(RAGE)は終末糖化産物(AGE)の他、炎症性 S100 蛋白などが結合し、糖尿病性血管障害の発症・進展や癌・老化などに関与する。我々は PAH 患者の肺動脈平滑筋細胞においても S100 蛋白・RAGE の発現が亢進し、細胞増殖を促進していることを報告してきた。また我々はプロスタサイクリン(PGI₂)アナログ封入ナノ粒子の吸入による PAH に対するナノメディシンを開発してきた。今回 RAGE 特異的 DNA-aptamer 封入ナノ粒子の吸入による肺高血圧症の新規治療法の開発を目的として検討を行う。

2. 研究の目的

「RAGE 特異的 DNA-aptamer 封入ナノ粒子の吸入による肺高血圧症の新規治療法の開発」を目的として、下記 2 項目の検討を行う。

1) 肺高血圧モデルラットにおける RAGE 特異的 DNA-aptamer ならびに DNA-aptamer 封入ナノ粒子の効果の検討

2) PAH 患者肺動脈平滑筋細胞における RAGE 特異的 DNA-aptamer ならびに DNA-aptamer 封入ナノ粒子による過剰増殖に対する効果の検討

我々を含め RAGE シグナルが PAH の病態に関与すると報告しているが(Meloche et al. *JAMA* 2013, Nakamura et al. *JCS* 2016, AHA 2016 発表)、RAGE シグナル抑制による治療法はまだ開発されていない。肺高血圧症にて RAGE シグナル抑制という世界初の治療法を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

1) 肺高血圧モデルラットにおける RAGE 特異的 DNA-aptamer ならびに DNA-aptamer 封入ナノ粒子の効果の検討: モノクローリン誘発性肺高血圧モデルラットにおいて RAGE 特異的 DNA-aptamer を投与しその治療効果を検討する。さらに以前報告した方法と同様に(Akagi & Nakamura et al. *J Cardiovasc Pharmacol* 2016)、DNA-aptamer 封入ナノ粒子を乳酸・グリコール酸共重合体(co-poly-lactic/glycolic acid: PLGA)に封入してナノ粒子を製作して同様の検討を行う。

2) PAH 患者肺動脈平滑筋細胞における RAGE 特異的 DNA-aptamer ならびに DNA-aptamer 封入ナノ粒子による過剰増殖に対する効果の検討: RAGE 特異的 DNA-aptamer が肺動脈平滑筋細胞の増殖を抑制する効果を持つか (方法: Nakamura et al. *Int J Cardiol* 2012. Ogawa, Nakamura et al. *Circulation* 2005)、培養平滑筋細胞を用いて検討する。さらに DNA-aptamer 封入ナノ粒子をもちいて同様の検討を行う。

4. 研究成果

1) 肺高血圧モデルラットにおける RAGE 特異的 DNA-aptamer ならびに DNA-aptamer 封入ナノ粒子の効果の検討: モノクローリン誘発性肺高血圧症モデルラットにおいてモノクローリンと同時に終末糖化産物受容体 RAGE 特異的 DNA aptamer の持続皮下注を行ったところ、右室収縮期圧の上昇を有意に抑制した。さらに肺動脈病理像を検討したところ、肺動脈の中膜に RAGE が過剰に発現しており、さらに RAGE 特異的 DNA aptamer 投与群において中膜平滑筋層の肥厚が非投与群にくらべ有意に抑制された。すなわち RAGE 特異的 DNA aptamer は肺高血圧症と肺動脈リモデリングの発生抑制効果を認めた(Nakamura et al. *J Cardiol*. 2021;78:12-16.)。次にナノ粒子を現在作成中である。また様々なナノ粒子の肺高血圧症への治療効果をまとめて報告した(Nakamura et al. *Int J Mol Sci*. 2019;20:E5885; 中

村一文等 *Medical Science Digest* 2021;47(1):43-45)。

2) PAH 患者肺動脈平滑筋細胞における RAGE 特異的 DNA-aptamer ならびに DNA-aptamer 封入ナノ粒子による過剰増殖に対する効果の検討: 特発性および遺伝性 PAH 患者の移植時摘出肺の中膜平滑筋層において RAGE およびそのリガンドである S100A8/A9 蛋白が過剰発現していた。さらに培養した PAH 患者の肺動脈平滑筋細胞において、血小板由来増殖因子(PDGF)刺激にて RAGE の発現は増加した。PAH 肺動脈平滑筋細胞の増殖は PAH のない対照 control の PSMCs より亢進しており、TIR/BB-loop 類似構造体にて TIRAP 機能抑制を介して RAGE signaling を抑制してみると、PDGF 刺激による増殖反応は抑制された。そして PAH 肺動脈平滑筋細胞において PDGF 刺激による増殖亢進を RAGE 特異的 DNA aptamer は有意に抑制した(*PLoS One*. 2018;13:e0203046)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Wakasugi Takayuki, Shimizu Ippei, Yoshida Yohko, Hayashi Yuka, Ikegami Ryutaro, Suda Masayoshi, Katsuumi Goro, Nakao Masaaki, Hoyano Makoto, Kashimura Takeshi, Nakamura Kazufumi, Ito Hiroshi, Nojiri Takashi, Soga Tomoyoshi, Minamino Tohru	4. 巻 14
2. 論文標題 Role of smooth muscle cell p53 in pulmonary arterial hypertension	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0212889-90
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0212889	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Akagi Satoshi, Ejiri Kentaro, Kasahara Shingo, Nakamura Kazufumi, Ito Hiroshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Improvement of lung function and pulmonary hypertension after pulmonary aneurysm repair: case series	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pulmonary Circulation	6. 最初と最後の頁 1~4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/2045894019831217	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Nakamura Kazufumi, Akagi Satoshi, Ejiri Kentaro, Yoshida Masashi, Miyoshi Toru, Toh Norihisa, Nakagawa Koji, Takaya Yoichi, Matsubara Hiromi, Ito Hiroshi	4. 巻 20
2. 論文標題 Current Treatment Strategies and Nanoparticle-Mediated Drug Delivery Systems for Pulmonary Arterial Hypertension	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5885 ~ 5885
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms20235885	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Akagi Satoshi, Matsubara Hiromi, Nakamura Kazufumi, Oto Takahiro, Ejiri Kentaro, Ito Hiroshi	4. 巻 84
2. 論文標題 Marked Reduction of Pulmonary Artery Pressure After Registration for Lung Transplantation Is Associated With Long-Term Survival in Patients With Pulmonary Arterial Hypertension Cohort Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 245 ~ 251
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1253/circj.CJ-19-0784	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kuroda Kazuhiro, Akagi Satoshi, Nakamura Kazufumi, Sarashina Toshihiro, Ejiri Kentaro, Ito Hiroshi	4. 巻 29
2. 論文標題 Successful Transition From Phosphodiesterase-5 Inhibitors to Riociguat Without a Washout Period in Patients With Pulmonary Arterial Hypertension and Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension: A Pilot Cohort Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Heart, Lung and Circulation	6. 最初と最後の頁 331 ~ 336
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.hlc.2019.01.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akagi Satoshi, Miki Takashi, Sando Yasuhisa, Fujii Nobuharu, Sarashina Toshihiro, Nakamura Kazufumi, Ito Hiroshi	4. 巻 61
2. 論文標題 Chemotherapy Improved Pulmonary Arterial Hypertension in a Patient with Chronic-Active Epstein-Barr Virus Infection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Heart Journal	6. 最初と最後の頁 191 ~ 194
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1536/ihj.19-419	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 中村一文、赤木達、江尻健太郎	4. 巻 77
2. 論文標題 肺動脈性肺高血圧症 リバースリモデリングを目指した治療開発 特集：肺高血圧症	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本臨床	6. 最初と最後の頁 1202-1205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 中村一文、江尻健太郎、赤木達	4. 巻 64
2. 論文標題 肺動脈性肺高血圧症の病態、分子病態と治療の展望 特集 肺高血圧症 ガイドラインとニース会議提言を紐解く	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 呼吸器ジャーナル	6. 最初と最後の頁 570-573
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1437200298	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 中村一文, 赤木達, 江尻健太郎, 伊藤浩	4. 巻 37
2. 論文標題 右心室および肺循環の病態生理学 特集 第6回 世界肺高血圧症学会2018のステートメントを読み解く: アンメット・メディカル・ニーズは解決されたのか?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 呼吸器内科	6. 最初と最後の頁 233-237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura K, Sakaguchi M, Matsubara H, Akagi S, Sarashina T, Ejiri K, Akazawa K, Kondo M, Nakagawa K, Yoshida M, Miyoshi T, Ogo T, Oto T, Toyooka S, Higashimoto Y, Fukami K, Ito H.	4. 巻 13
2. 論文標題 Crucial role of rage in inappropriate increase of smooth muscle cells from patients with pulmonary arterial hypertension.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0203046
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0203046	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Akagi S, Nakamura K, Sarashina T, Ejiri K, Kasahara S, Ito H.	4. 巻 71
2. 論文標題 Progression of pulmonary artery dilatation in patients with pulmonary hypertension coexisting with a pulmonary artery aneurysm.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Cardiol	6. 最初と最後の頁 517-522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2017.11.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akagi S, Matsubara H, Nakamura K, Ito H.	4. 巻 72
2. 論文標題 Modern treatment to reduce pulmonary arterial pressure in pulmonary arterial hypertension.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Cardiol	6. 最初と最後の頁 466-472
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2018.04.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akagi S, Kasahara S, Sarashina T, Nakamura K, Ito H.	4. 巻 2
2. 論文標題 Treat-and-repair strategy is a feasible therapeutic choice in adult patients with severe pulmonary arterial hypertension associated with a ventricular septal defect: Case series.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Eur Heart J Case Rep	6. 最初と最後の頁 yty033
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ehjcr/yty033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wakasugi T, Shimizu I, Yoshida Y, Hayashi Y, Ikegami R, Suda M, Katsuomi G, Nakao M, Hoyano M, Kashimura T, Nakamura K, Ito H, Nojiri T, Soga T, Minamino T.	4. 巻 14
2. 論文標題 Role of smooth muscle cell p53 in pulmonary arterial hypertension	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0212889
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0212889	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 大塚寛昭、赤木達、中村一文	4. 巻 22
2. 論文標題 長年のCOPD治療中に心エコー肺高血圧と右心不全を指摘され、呼吸器内科よりコンサルトを受けた患者	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Heart View	6. 最初と最後の頁 215-220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 中村一文、松三博明、赤木達	4. 巻 66
2. 論文標題 CTとMRI 特集 肺高血圧症Cutting Edge	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 循環器ジャーナル	6. 最初と最後の頁 377-381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 1) Nakamura K, Akagi S, Ejiri K, Yoshida M, Miyoshi T, Sakaguchi M, Amioka N, Suastika LOS, Kondo M, Nakayama R, Takaya Y, Higashimoto Y, Fukami K, Matsubara H, Ito H.	4. 巻 78
2. 論文標題 Inhibitory effects of RAGE-aptamer on development of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Cardiol	6. 最初と最後の頁 12-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jjcc.2020.12.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Nakamura K
2. 発表標題 Inhibitory Effects of RAGE Aptamer on Proliferation of Smooth Muscle Cells from Pulmonary Arterial Hypertension
3. 学会等名 第83回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村一文
2. 発表標題 肺循環の生理と肺高血圧症の病態生理からみたその治療
3. 学会等名 日本心臓血管麻酔学会 第24回学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakamura K
2. 発表標題 Crucial Role of Hypoxia in Epigenetic Changes of Pulmonary Artery SMCs from PAH with BMPR2 Mutation
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakamura K
2. 発表標題 Heart failure and pulmonary hypertension from anticancer drugs
3. 学会等名 23rd Annual Scientific Meeting of the International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakamura K
2. 発表標題 Reverse Right Ventricular Remodeling after Lung Transplantation in patients With PAH
3. 学会等名 Asian Pacific Society of Cardiology Congress 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村一文
2. 発表標題 肺血管のリバース リモデリングを目指した肺高血圧症の治療
3. 学会等名 第3回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村一文
2. 発表標題 肺循環の生理と肺高血圧症の病態生理からみたその治療
3. 学会等名 第66回日本心臓病学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakamura K
2. 発表標題 Hypoxia Causes Epigenetic Changes in SMCs of PAH with BMPR2 Mutation
3. 学会等名 The 2nd JCS Council Forum on Basic Cardio Vascular Research
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村一文
2. 発表標題 右心不全診療の進歩
3. 学会等名 第22回日本心不全学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakamura K
2. 発表標題 Treatment for pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 2018 International Medical Symposium at Taichung Veterans General Hospital (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村一文
2. 発表標題 病態生理からみた肺高血圧症の診断と治療
3. 学会等名 第1回日本腫瘍循環器学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村一文
2. 発表標題 肺高血圧症の肺血管病理とCT画像
3. 学会等名 CVMW2018心血管代謝週間 (心筋生検研究会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazufumi Nakamura、Satoshi Akagi、Kentaro Ejiri、Toru Miyoshi、Masashi Yoshida、Kei Fukami、Hiroshi Ito
2. 発表標題 Inhibitory Effects of RAGE Aptamer on Proliferation of Smooth Muscle Cells from Pulmonary Arterial Hypertension
3. 学会等名 第 83 回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakamura K
2. 発表標題 Epigenetic Effects of Hypoxia on Pathological Changes of SMCs from PAH with BMPR2 Mutation
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakamura K
2. 発表標題 TRPV2 Promotes Hypoxia-induced Pulmonary Hypertension
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akagi S, Nakamura K, Ejiri K, Ito H
2. 発表標題 Drug Interaction between prostaglandin I2 and endothelin receptor antagonist via IP receptor in pulmonary hypertension
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 中村一文、赤木達（分担執筆）	4. 発行年 2020年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 212
3. 書名 肺高血圧症診療ハンドブック（分担）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	赤木 達 (Akagi Satoshi) (60601127)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教 (15301)	
研究分担者	阪口 政清 (Sakaguchi Masakiyo) (70379840)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	
研究分担者	三好 亨 (Miyoshi Toru) (70444651)	岡山大学・大学病院・講師 (15301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	深水 圭 (Fukami Kei) (80309781)	久留米大学・医学部・教授 (37104)	
研究分担者	伊藤 浩 (Ito Hiroshi) (90446047)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関