

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08094

研究課題名(和文) 肺動脈性肺高血圧症における新規分子病態を基盤としたバイオマーカーの開発

研究課題名(英文) Development of a novel diagnostic and prognostic biomarker for pulmonary arterial hypertension

研究代表者

菊地 順裕 (Kikuchi, Nobuhiro)

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：70816454

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：肺動脈性肺高血圧症は、無治療の場合はその5年生存率が約20%と重篤な難病である。早期診断が難しく、現在までに実用化された疾患特異的バイオマーカーは存在しない。我々はこれまでに、患者由来組織を用いた網羅的解析によって新規病因蛋白セレノプロテインP (SeP) を同定し、SePが疾患発症メカニズムに深く関与していることを示した。本研究において、患者由来血液サンプルを用いたSeP濃度測定の結果、患者群は対照群に比べ血中SeP濃度が有意に高値であり、更に治療経過中のSeP濃度の増減が、その予後と相関することを示した。また、これらの変化は心不全や他の一般的な生活習慣病では認められず、疾患特異性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺動脈性肺高血圧症は、現時点で根本的な治療法が肺移植のみに限られる重篤な難病である。その非特異的症状のため早期診断が難しく、現在までに実用化された疾患特異的バイオマーカーは存在しない。本研究で明らかになったセレノプロテインPを本疾患のバイオマーカーとして実用化することができれば、これまで入院の上心臓カテテル検査などの侵襲的検査を行うことでしか診断や治療効果判定が出来なかった本疾患について、より簡便な非侵襲的スクリーニングが可能となり、診断後も定期的に必要であった入院検査を安全に減らすことができ、患者負担を減らし適切な治療法の選択につながる事が期待される。

研究成果の概要(英文)：Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a rare disease without a specific biomarker for its diagnosis. We have recently demonstrated that gene expression of selenoprotein P (SeP) in the lung is markedly up-regulated in PAH patients and plays crucial roles in the pathogenesis of the disorder. In this study, we examined whether serum levels of SeP could be a useful biomarker for the disease. PAH patients showed significantly higher levels of serum SeP compared with controls. Higher SeP levels were associated with the composite endpoint of all-cause death and lung transplantation in PAH patients. Importantly, absolute changes in SeP levels in PAH patients significantly correlated with those of some important hemodynamic parameters. Furthermore, the increases in SeP levels during follow-up predicted the poor outcome of PAH patients. These results indicate that serum SeP levels are a novel biomarker for diagnosis and assessment of treatment efficacy and long-term prognosis in PAH patients.

研究分野：循環器内科学、肺高血圧症

キーワード：肺動脈性肺高血圧症 バイオマーカー セレノプロテインP

1. 研究開始当初の背景

（1）依然として致死的な肺動脈性肺高血圧症

肺動脈性肺高血圧症（PAH）は、血管内皮機能障害・血管平滑筋細胞増殖・炎症細胞浸潤などが複雑に相互作用し、肺微小血管の壁肥厚・狭小化（肺血管リモデリング）が進行する致死疾患である。本疾患は無治療での5年生存率が20%と重篤かつ致死的事であることに加え、その非特異的な症状のために早期診断は循環器専門医でも困難を極め、診断確定後に既存の標準的治療法である肺血管拡張薬の多剤併用療法を用いても、その5年生存率は50%と予後不良である。早期診断がかなわず、多剤併用療法にも抵抗性で重症化してしまった患者を救う最終手段は依然として肺移植以外には無いが、本邦における移植ドナー数は依然限られ、その急速な進行から移植までに合わない症例が後を絶たない。本疾患の診断のための特異的なバイオマーカーは未だ存在せず、その開発が強く望まれている。

（2）新規病因蛋白発見と新規バイオマーカー開発

我々は、当科で長年にわたりライブラリー化してきたPAH患者由来の肺組織や、PAH病態の中心と考えられているPAH由来肺動脈血管平滑筋細胞（PAH細胞）を用いて、PAHにおいて発現・分泌が亢進している蛋白を対象に新規病因候補遺伝子・蛋白の網羅的スクリーニングを行った。その結果、これまでPAHとの関連が全く示唆されていなかった新規病因蛋白セレノプロテインP（SeP）を同定した。PAH患者由来サンプルを用いた *in vitro* における検討や、計5種類に及ぶ遺伝子改変動物を用いた *in vivo* における詳細な検討により、SePがPAHの病態形成・促進に重要な役割を果たしていることを証明し、本疾患の病態の解明に向けた研究を進めてきた（Kikuchi N. et al. *Circulation*. 2018）。

2. 研究の目的

本研究は、PAHに対する早期診断、重症度評価のための世界初のバイオマーカーとしてのSePの有用性の検討とその実用化を目指す。当科が保有するPAHを含む心血管疾患、生活習慣病患者の血液サンプルを用いたSeP測定を行い、データベース化されたそれぞれに対応する臨床データと照らし合わせることにより、信頼性の高いアッセイ系の確立、バイオマーカーとしての有用性を検討する。

3. 研究の方法

（1）セレノプロテインP測定のための最適なアッセイ系の確立

SeP蛋白は、セリンプロテアーゼの基質として切断されることや、測定機器のチューブ類に結合しやすい性質が知られており、SeP蛋白の一部のみを認識する抗体を用いた従来型ELISA法によるSeP濃度測定にはばらつきが伴うことが報告されている

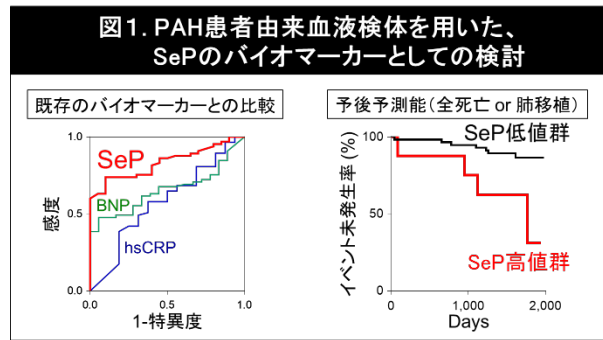
（Tanaka et al., *J Clin Lab Anal.*, 00, 1-9, 2014）。そこで、金コロイド凝集法による全長SePの血中濃度測定を行う。これにより、再現性を持ち信頼性の高い高精度な全長SeP濃度測定のためのアッセイ系の確立を目指す。

（2）肺高血圧症診断におけるセレノプロテインP測定の臨床的有用性の検証

当科で長年に渡りライブラリー化を行ったPAH由来の血清・血漿・遺伝子サンプルライブラリーを用い、バイオマーカーとして有用な蛋白としての臨床的評価を進める。これらのサンプルには肺動脈血行動態カテーテル検査や入院時一般血液検査を初めとする全臨床データが付与されており、網羅的解析が可能なデータベースを構築済みであることに加え、本データベースの情報は日々の診療で常に情報が更新、蓄積されており、長期フォローアップ情報を含めた極めて信頼性の高い解析が可能となる。

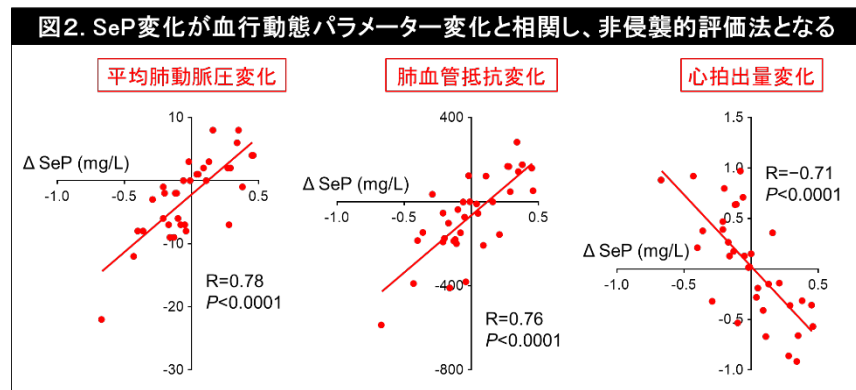
4. 研究成果

これまでに PAH と対照群をはじめとして、PAH を除く肺高血圧症、その他の心血管疾患や生活習慣病患者由来検体を含め、3500 検体余りの血液サンプルを用いた SeP 測定を完了している。その結果、PAH 群はコントロール群に比べ血中 SeP 濃度の有意な上昇を認め、PAH における血中 SeP 高値群（カット



オフ値 3.47 mg/L) は SeP 低値群に比べて有意に予後（全死亡と肺移植の複合エンドポイント）が不良であった（ハザード比: 4.85 (95%信頼区間 1.42–16.6)、 $P < 0.01$) (図1)。さらに、これまで PAH に対して有効性が報告されている既存のバイオマーカー（脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) , 高感度 C 反応蛋白 (hs-CRP) など) に比べ、SeP の PAH 診断における良好な感度、特異度が示された (図1)。さらに PAH 群において、PAH 特異的治療薬の導入前後における血中 SeP 濃度の変化量 (Δ SeP) と、PAH の重症度評価目的に用いられる主要な血行動態パラメータとの相関関係を解析した結果、 Δ SeP が平均肺動脈血圧変化量 (Δ mPAP)、肺血管抵抗変化量 (Δ PVR)、心係数 (Δ CI) と有意に相関することを示した (それぞれ $R=0.78$ 、 0.76 、 -0.71 、全て $P < 0.0001$) (図2)。

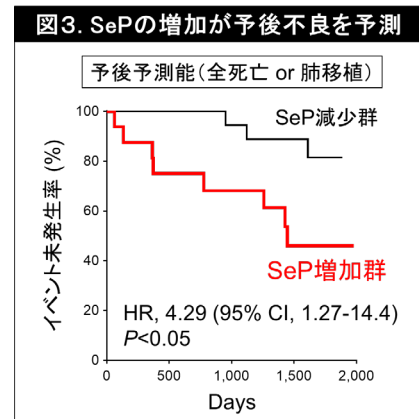
PAH 患者において PAH 特異的治療の導入前後に血中 SeP 濃度が増加した群は、低下した群に比べて有意に予後不良であることを示した (図3)。



本研究により、

血中 SeP 濃度が PAH の診断と予後評価における世界初の特異的バイオマーカーとなる可能性が示唆された (Kikuchi N. et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019)。

引き続き疾患特異性を検討するべく、各種心血管疾患患者や生活習慣病患者由来の血液検体を用いた解析を行った結果、上記で得られたような PAH 患者における血中 SeP 濃度上昇と予後や臨床データとの相関とは全く異なる血中濃度と予後との関係を示す結果が得られており、血中 SeP 濃度上昇は PAH の病態に深く関与したものであることが示唆された。



<引用文献>

1. **Kikuchi N**, Satoh K, Shimokawa H, et al. Selenoprotein P promotes the development of pulmonary arterial hypertension: a possible novel therapeutic target. *Circulation*. 2018; 138:600-623.
2. **Kikuchi N**, Satoh K, Shimokawa H, et al. Diagnostic and prognostic significance of serum levels of selenoprotein P in patients with pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019. 39:2553-2562.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8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 Kurosawa R, Satoh K, Nakata T, Shindo T, Kikuchi N, Satoh T, Siddique MAH, Omura J, Sunamura S, Nogi M, Takeuchi Y, Miyata S, Shimokawa H.	4. 巻 41
2. 論文標題 Identification of Celastrol as a Novel Therapeutic Agent for Pulmonary Arterial Hypertension and Right Ventricular Failure Through Suppression of Bsg (Basigin)/CyPA (Cyclophilin A)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arterioscler Thromb Vasc Biol .	6. 最初と最後の頁 1205-1217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/ATVBAHA.120.315731.	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 Yaoita N, Satoh K, Satoh T, Shimizu T, Saito S, Sugimura K, Tatebe S, Yamamoto S, Aoki T, Kikuchi N, Kurosawa R, Miyata S, Nagasaki M, Yasuda J, Shimokawa H.	4. 巻 9
2. 論文標題 Identification of the Novel Variants in Patients With Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Am Heart Assoc.	6. 最初と最後の頁 e015902
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.120.015902.	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 Satoh K, Kikuchi N, Shimokawa H.	4. 巻 40
2. 論文標題 PIM1 (Provirus Integration Site For Moloney Murine Leukemia Virus) as a Novel Biomarker and Therapeutic Target in Pulmonary Arterial Hypertension: Another Evidence for Cancer Theory.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Arterioscler Thromb Vasc Biol.	6. 最初と最後の頁 500-502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/ATVBAHA.120.313975	査読の有無 無
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 Nobuhiro Kikuchi, Kimio Satoh, Taiju Satoh, Nobuhiro Yaoita, Mohammad Abdul Hai Siddique, Junichi Omura, Ryo Kurosawa, Masamichi Nogi, Shinichiro Sunamura, Satoshi Miyata, Hirofumi Misu, Yoshiro Saito, Hiroaki Shimokawa	4. 巻 39
2. 論文標題 Diagnostic and Prognostic Significance of Serum Levels of SeP (Selenoprotein P) in Patients With Pulmonary Hypertension	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arterioscler Thromb Vasc Biol.	6. 最初と最後の頁 2553-2562
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/ATVBAHA.119.313267.	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 Kikuchi N, Satoh K, Saito Y, Shimokawa H.	4. 巻 139
2. 論文標題 Response by Kikuchi et al regarding article, "selenoprotein P promotes the development of pulmonary arterial hypertension: a possible novel therapeutic target"	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circulation	6. 最初と最後の頁 724-725
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038479	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 Satoh K, Kikuchi N, Kurosawa R, Shimokawa H	4. 巻 39
2. 論文標題 Checkpoint kinase 1 promotes the development of pulmonary arterial hypertension	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arterioscler Thromb Vasc Biol	6. 最初と最後の頁 1504-1506
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/ATVBAHA.119.312969	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 Omura J, Satoh K, Kikuchi N, Satoh T, Kurosawa R, Nogi M, Ohtsuki T, Elias-Al-Mamun M, Siddique MAH, Yaoita N, Sunamura S, Miyata S, Hoshikawa Y, Okada Y, Shimokawa H	4. 巻 125
2. 論文標題 ADAMTS8 promotes the development of pulmonary arterial hypertension and right ventricular failure: a possible novel therapeutic target	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circ Res	6. 最初と最後の頁 884-906
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCRESAHA.119.315398	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 Kurosawa R, Satoh K, Kikuchi N, Kikuchi H, Saigusa D, Elias-Al-Mamun M, Siddique MAH, Omura J, Satoh T, Sunamura S, Nogi M, Numano K, Miyata S, Uruno A, Kano K, Matsumoto Y, Doi T, Aoki J, Oshima Y, Yamamoto M, Shimokawa H	4. 巻 125
2. 論文標題 Identification of celastramycin as a novel therapeutic agent for pulmonary arterial hypertension: high-throughput screening of 5,562 compounds	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circ Res	6. 最初と最後の頁 309-327
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCRESAHA.119.315229	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 Kikuchi N, Satoh K, Kurosawa R, Yaoita N, Elias-Al-Mamun M, Siddique MAH, Omura J, Satoh T, Nogi M, Sunamura S, Miyata S, Saito Y, Hoshikawa Y, Okada Y, Shimokawa H.	4. 巻 138
2. 論文標題 Selenoprotein P Promotes the Development of Pulmonary Arterial Hypertension.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Circulation	6. 最初と最後の頁 600-623
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.033113.	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9件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Nobuhiro Kikuchi
2. 発表標題 Diagnostic and prognostic significance of serum levels of selenoprotein P in patients with pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 アメリカ心臓協会学術集会 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nobuhiro Kikuchi
2. 発表標題 Selenoprotein P and mitochondrial dysfunction in PAH
3. 学会等名 13th PVRI Annual World Congress on PVD (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊地 順裕
2. 発表標題 新規病因蛋白セレノプロテインPによる肺高血圧症 促進機構の解明
3. 学会等名 第60回 日本脈管学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊地 順裕
2. 発表標題 新規病因蛋白セレノプロテインPによる肺高血圧症促進機構の解明と治療標的、バイオマーカーとしての臨床応用
3. 学会等名 第4回 日本肺高血圧・肺循環学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊地 順裕
2. 発表標題 Identifications of novel molecular mechanisms and therapeutic targets of pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 第83回 日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nobuhiro Kikuchi
2. 発表標題 Diagnostic and Prognostic Significance of Serum Levels of Selenoprotein P in Patients with 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 Nobuhiro Kikuchi
2. 発表標題 Prognostic Impacts of Serum Levels of Selenoprotein P in Patients with Pulmonary Arterial Hypertension.
3. 学会等名 アメリカ心臓協会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 菊地 順裕
2. 発表標題 新規病因蛋白セレノプロテインPによる肺高血圧症促進機構.
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 Nobuhiro Kikuchi
2. 発表標題 Diagnostic and prognostic significance of serum levels of selenoprotein P in patients with pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 ヨーロッパ心臓病学会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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	佐藤 公雄 (Sato Kimio) (80436120)	東北大学・高度教養教育・学生支援機構・准教授 (11301)	

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
---------	---------