

平 21 年 5 月 5 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19791336
 研究課題名（和文） アンギオテンシン I I と急性肺障害：AT1 受容体阻害による肺保護作用
 研究課題名（英文） Protective effect of AT1 receptor inhibitor on acute lung injury
 研究代表者
 野口 裕記（NOGUCHI HIROKI）
 愛知医科大学・医学部・講師
 研究者番号：30329809

研究成果の概要：angiotensin II (AGII)は、強い血管収縮作用などにより高血圧症のみならず腎障害、心筋障害も惹起することが知られているが、近年、ALI/ARDS 発症にも関与していることが注目されている。今回私どもは敗血症性ALI/ARDS患者の、血中AGII濃度、アンギオテンシン変換酵素(ACE)遺伝子多型を検討することにより、ALI/ARDSとAGIIとの関連、およびAGII血中濃度に影響を与えるACE遺伝子多型と生存率との関連を検討したところAGIIは、ALI/ARDSで高値を示した。しかしながらACE活性が高いとされる(D/D)genotypeにALI/ARDS発症が多いわけではなかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	0	1,500,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,300,000	240,000	2,540,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：AT1受容体、アンギオテンシン、急性肺障害、単球

1. 研究開始当初の背景

ALI/ARDSはICUにおける合併症で頻度が高いにもかかわらず、その詳細な発症機序は不明であり治療法も限られている。angiotensin IIはレニン、アンギオテンシン系（RAS）の

中心的なホルモンであり、強い血管収縮作用などにより高血圧症のみならず腎臓障害、心筋障害も惹起することが明らかになり、近年、抗angiotensin II療法による臓器保護作用が

注目されている。angiotensin II合成の律速段階にあるアンジオテンシン変換酵素 (ACE) とACE2は、主に肺に発現している。その結果、肺組織におけるangiotensin II濃度は高い (Marshall. Curr Pharma Design; 2003)とされているものの、angiotensin IIの肺に対する働きはこれまでほとんど検討されていなかった。最近、気管内塩酸投与により作製したマウスARDSモデルにおいて、ACE2活性低下に起因した肺および血液中angiotensin IIの増加が報告され (Imai. Nature; 2005)、ARDSとangiotensin IIの関連が指摘されている。ACE2はACE活性を抑制する生理的作用を有しているため、その低下はACE活性を上昇させangiotensin II濃度を増加させる。angiotensin IIの増加は、肺毛細血管透過性亢進を惹起し (Christopher. Surgery; 2004)、ARDSを引き起こすとしている。Fujigakiらは非心原性肺水腫に対しACE阻害剤を投与し酸素化の改善を認めその有効性を報告している (Ther Apher Dial; 2004)。さらに興味深いことにangiotensin IIの受容体であるangiotensin II type I receptor (AT₁R)が、血管内皮細胞、血管平滑筋のみならず免疫担当細胞である好中球、単球、リンパ球、血小板にも発現している (Suzuki. Endoer J; 1995) ことが明らかにされ、angiotensin IIの炎症に及ぼす直接的な影響も推察されている。angiotensin IIの好中球AT₁R (Piqueras. Circulation; 2000)、単球AT₁R (Petnehazy. Arterioscler Thromb Vasc Biol; 2006)を介する血管内皮細胞への細胞接着促進、ACE阻害剤による好中球活性酸素産生抑制、NFκB抑制効果 (Dandoma. J Clin EndocrinolMetab; 2003)、白血球遊走阻害 (Godsel. J Immunol; 2003)、および炎症性サイトカイン産生抑制 (Siragy. Endocrinology; 2003)が報告されている。すなわちRASの活性化は血管収縮、

血管透過性亢進作用のみならず、白血球の集積、活性化に基づく催炎症作用にて急性肺障害発症に関与していることが推察されている。すなわち従来から提唱されてきた、好中球、血管内皮細胞相互関係と炎症性サイトカイン、ケモカイン動態のみではALI/ARDSの発症機序を説明できない可能性を見いだしている。RAS活性化とALI/ARDSの関係は、従来と全く異なる考え方であるため注目している。

2. 研究の目的

本研究目的は、1)ALI/ARDSの発症に際してangiotensin IIがいかなる役割を果たしているか? 2)ACE阻害薬およびangiotensin II作用をブロックするAT₁受容体遮断薬がALI/ARDSに対して治療効果を有するか否か?の2点に焦点を絞る。今回はこれらの点をさらに拡大して動物を使用した基礎実験もあわせて施行することにより、RAS活性化とALI/ARDSの関係を詳細に検討する。すなわち、1) 実験的ALI/ARDSにおける肺内angiotensin II、ACE活性の動態、2) ACE阻害薬およびAT₁受容体遮断薬の単球サイトカイン産生能に及ぼす影響、3) ACE阻害薬およびAT₁受容体遮断薬の肺への好中球および単球リクルートメントに及ぼす影響、4) ACE阻害薬およびAT₁受容体遮断薬の好中球活性酸素産生能、貪食能に及ぼす影響である。

3. 研究の方法

対象患者

ALI/ARDS の治療中で高血圧を伴いかつ同意が得られる成人を対象とする。ALI/ARDSは非心原性で両側びまん性の肺浸潤影を伴う低酸素血症とする。低酸素血症の程度としてALIはPaO₂/FiO₂が200-300、ARDSは200以下とする。高血圧は150/90 mmHg以上の場合または主治医が降圧を必要と判断した場合

とする。降圧目標は、日本高血圧学会の取り決めによる「高血圧治療ガイドライン 2004」に基づき 65 歳以上では 140/90 mmHg 未満、若年、中年者では 130/85 mmHg 未満、腎障害、糖尿病患者では 130/80 mmHg 未満とする。ACE 阻害薬および AT1 受容体遮断薬のみで降圧が不十分な場合には他剤の併用を行う。110/70 mmHg を持続的に下回る場合もしくは主治医が不必要と判断した際には本薬剤の投与を中止する。目標症例数は薬剤投与群 10 例、対照 10 例（計 20 例）。ALI/ARDS の治療中で高血圧を伴わない場合を対照群とする。対照群は ACE 阻害薬および AT1 受容体遮断薬の投与を行わない。

実施項目および実施時期

ACE 阻害薬および AT1 受容体遮断薬服用前、服用後 1 日、3 日、および 5 日目に各々 2 ml ずつ採血する。対照群では降圧剤の投与を行わないので ALI/ARDS の診断時、診断後 1 日、3 日、および 5 日目に各々 2 ml ずつ採血する。ALI/ARDS に対する通常の治療を行った上で ACE 阻害薬としてペリンドプリルエルブミン（コバシル）4 mg および AT1 受容体遮断薬としてロサルタンカリウム（ニューロタン）50 mg を一日一回経鼻胃管より注入する。投与量は降圧効果を確認し随時調節する。検討項目は血中レニン活性、アンジオテンシン II 濃度、好中球、単球上 AT₁R 発現量とする。胸部レントゲン写真、動脈血液ガス、一般血液検査は集中治療室において通常施行される結果を参考にする。

好中球、単球上 AT₁R 発現の測定（研究代表者）

末梢血好中球、単球における AT₁R は FITC 標識抗 AT₁R 抗体にて染色後フローサイトメーターにて（Rasini E et al. Regulatory Peptides. 2006）測定する。すなわちヘパリ

ン加採血にて採取した全血 0.1 ml に抗 AT₁R 抗体（N-10, Santa Cruz Biotechnology, CA）を加え 4°C、20 分間 incubate したのち PBS にて 1 回洗浄後 1%ホルマリンにて固定する。フローサイトメーターにて単球領域および好中球領域の FITC 蛍光度を測定する。ACE 遺伝子多型は、全血より抽出した DNA を PCR で増幅した後、intron 16 における (I)/insertion、(D)/deletion の有無により (I/I)、(D/I)、(D/D) の 3 種類の genotype に分類した。

4. 研究成果

敗血症における AGII 血中濃度は、(ALI/ARDS 無し) 3.3 ± 2.1 pg/ml、(ALI/ARDS 有り) 13.4 ± 5.2 pg/ml と ALI/ARDS において高い傾向にあった。ALI/ARDS における予後と AGII 血中濃度は、生存群 1.25 ± 0.61 pg/ml、死亡群 20.2 ± 7.4 pg/ml と死亡群において有意に AGII が高値であった。ALI/ARDS を認めた患者の genotype は、(I/I)28%、(D/I)72%、(D/D)0%であり、死亡率は、(I/I) (D/I)共に 50%であった。

結論

AGII は、ALI/ARDS で高値を示した。しかしながら ACE 活性が高いとされる (D/D) genotype に ALI/ARDS 発症が多いわけではなかった。結論を得るには今後さらに症例を重ねる必要がある。

国内外におけるインパクト

AGII が、ALI/ARDS において高値を示すことを明らかにしたのは国内では私どもが初めてである。この結果は当初の仮説通り AGII が ALI/ARDS 発症に関与していることの裏付けになる。今回は AT₁R 遮断薬の投与を行うことが出来なかったためその治療効果は確認し得なかった。しかしながら AGII 濃度低下による ALI/ARDS 治療の可能性は十分に期待

されるため今後も引き続き検討を続ける。
なお AGII 産生に大きな影響を与えていると
される ACE 遺伝子多型と ALI/ARDS 発症率と
の間には明らかな相関は認められなかった。
この点に関しては今後症例を重ねること
により何らかの結論を出す予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に
は下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計1件)

①武山直志、野口裕記、アンギオテンシン I
I と急性肺障害：アンギオテンシン変換酵素
遺伝子多型を中心に、第 35 回日本救急医学
会総会、2008. 10、札幌

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野口 裕記 (NOGUCHI HIROKI)

愛知医科大学・医学部・講師
研究者番号：30329809

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者
なし

