

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08519

研究課題名(和文) 肺動脈性肺高血圧症での新規アポトーシス誘導物質の病態への関連性と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Elucidation of the relationship of novel apoptosis-inducing substances to the pathophysiology of pulmonary arterial hypertension

研究代表者

江口 正倫 (EGUCHI, Masamichi)

長崎大学・病院(医学系)・助教

研究者番号：70585405

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ORAIPはアポトーシスを誘導する分泌型タンパク質である。本研究では、肺動脈性肺高血圧症(PAH)における、ORAIPの病態への関与を解明を目指した。PAH症例では、コントロールの症例と比較して血中のORAIP濃度が高値であった。モノクロタリン(MCT)-PAHモデルラットでは肺組織でのORAIPの発現の上昇が認められ、anti-ORAIP中和抗体で肺高血圧の改善効果が認められた。しかし、SUGEN低酸素-PAHモデルラットでは、肺高血圧の改善効果が認められず、ORAIP受容体ノックアウトラットを用いて、PAHの程度を評価したが、野生型ラットをノックアウトラットでPAHの程度に差はなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ORAIPは低酸素負荷後再酸素化刺激された細胞から分泌されアポトーシスを誘導する分泌型タンパク質であり、モノクロタリンPAHモデルラットの肺組織でのORAIPの発現の上昇が認められ、anti-ORAIP中和抗体で肺高血圧の改善効果が認められた。そこで抗体医薬として肺動脈性肺高血圧症に対する用途特許を目指し、特許を取得した。しかし、より臨床に類似したSUGEN低酸素-PAHモデルラットでは、anti-ORAIP中和抗体での肺高血圧の改善効果は認められなかった。ORAIPのPAHへの病態への解明には、今後、さらなる検討が必要と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Oxidative stress-Responsive Apoptosis Inducing Protein (ORAIP) is a substance identified as a secretory protein that induces apoptosis. In this study, we aimed to elucidate the involvement of ORAIP in the pathophysiology of pulmonary arterial hypertension (PAH). The PAH cases had higher blood ORAIP levels than the control cases. Increased expression of ORAIP in lung tissue was observed in Monocrotaline (MCT) -PAH model rats, and anti-ORAIP neutralizing antibody therapy improve pulmonary hypertension. Furthermore, we created SUGEN hypoxia-PAH model rats, which are clinically similar models, and examined the effect of anti-ORAIP neutralizing antibody on improving pulmonary hypertension, but no effect was observed. In addition, a SUGEN hypoxia-PAH model was created using ORAIP receptor knockout rats and the degree of PAH was evaluated, but there was no difference in the degree of PAH between wild-type rats and knockout rats.

研究分野：循環器内科

キーワード：肺動脈性肺高血圧症 アポトーシス 抗体医療

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(PAH)は予後不良の病態であるが、近年、薬物療法の進歩により予後は改善してきている。しかし、その効果は十分とはいえず、新しい機序の治療薬の開発が喫緊の課題である。低酸素負荷後再酸素化刺激された心筋細胞から分泌されアポトーシスを誘導する分泌型タンパク質として、2015年にはじめて同定された物質があり、このタンパク質は酸化ストレス性疾患のバイオマーカーとしてだけでなく、その中和抗体は新しい機序の治療薬として注目されている。本研究では、このタンパク質がPAHのバイオマーカーとしての有用性を探究し、PAHの病態への関与を解明、新しい機序の治療薬の開発へとつながる研究を行う。

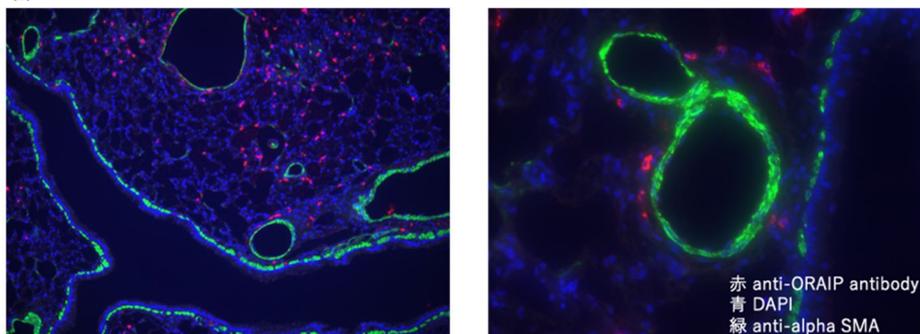
2. 研究の目的

Oxidative stress-Responsive Apoptosis Inducing Protein(ORAIP)は低酸素負荷後再酸素化刺激された心筋細胞から分泌されアポトーシスを誘導する分泌型タンパク質として、2015年にはじめて同定された物質である。ORAIPは酸化ストレス性疾患のバイオマーカーとしてだけでなく、その中和抗体は新しい機序の治療薬として注目されている。本研究では、PAHの血液中のORAIP濃度を測定し、各群のPAHのバイオマーカーとしての有用性を探究し、また、ORAIPのPAHの病態への関与を解明する。これらの研究は、既存の治療薬とは異なる新しい治療薬の開発を目指す。

3. 研究の方法

長崎大学病院循環器内科ではPAHが疑われ右心カテーテル検査が行われた症例の血液サンプルを患者さんの同意の下、採取、保存しており、ORAIPの血中濃度を測定し、平均肺動脈圧との相関性を検討し、バイオマーカーとしての有用性を探究する。バイオマーカーとして有効であれば、PAHの早期発見に繋がり、予後改善に大きく寄与出来ると考える。また、PAHの動物モデルは2種類あり、1つはモノクロタリン(MCT)をラットの腹腔内投与し肺動脈内皮の障害を起こしPAHを起こすモデル(MCT-PAHモデル)と、もう一つはVEGF受容体拮抗薬(SUGEN5416)を腹腔内に投与後、3週間、低酸素に暴露しPAHを誘導するモデル(低酸素-PAHモデル)である。まず本研究では、この2つのモデルを作成し、それぞれ、肺組織やその他の臓器でORAIPの発現を確認し、血中のORAIPの濃度を測定する。また、分担研究者の世古が作成したORAIP受容体ノックアウト(KO)ラットを搬入し、MCT-PAHモデルや低酸素-PAHモデルを作成し、Wild typeとPAHの病態の違いを比較し、ORAIPのPAH病態への関与を解明する。つぎにMCT-PAHモデル、低酸素-PAHモデルに

図1

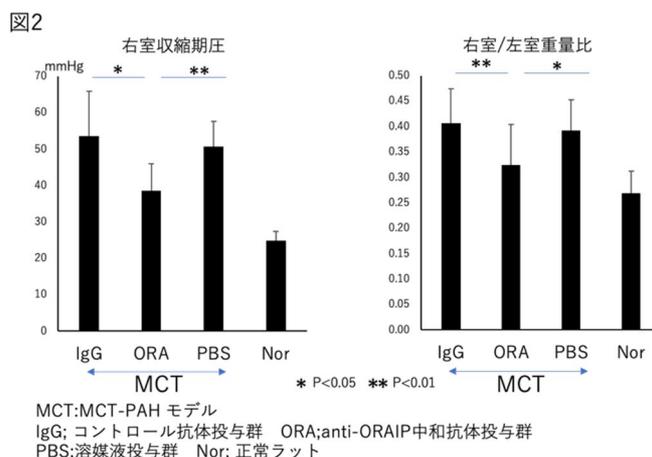


抗ORAIP中和抗体を投与しその病態への影響を心エコー、右心室圧測定、右室/左室重量比、病理組織像などで評価する。ORAIPのPAHの病態への関与を解明することで、既存の治療薬とは異なる新しい機序の治療薬の開発へとつながる基盤となる研究を行う。

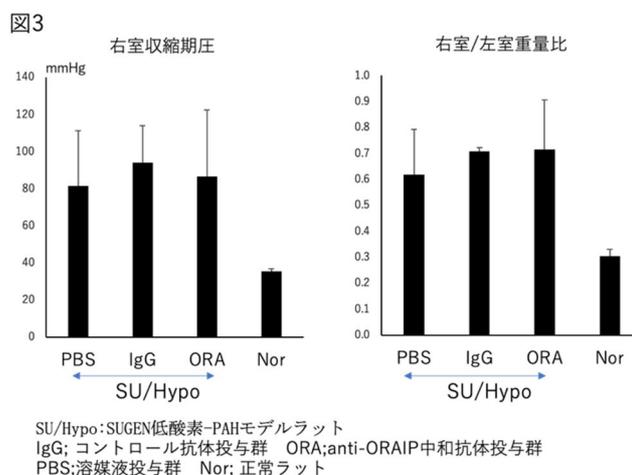
4. 研究成果

(1)まず、肺高血圧の症例 (n=30) と肺高血圧のない症例 (n=7) の血清中のORAIPの濃度を測定し、ORAIPの能動はPAH症例で優位に高値であった(平均値52.8(33.5-134.4) vs. 25.8(0-39.9) ng/ml, p=0.026)。さらに、ORAIPの血中濃度と平均肺動脈圧(r=0.46, p=0.030)、肺動脈血管抵抗(r=0.38, p=0.028)との間には、有意な正の相関が認められた。

(2)MCT-PAHモデルラットでは肺組織でのORAIP(図1-赤)の発現が認められ、ORAIPの病態への関与が強く推察された。そこで、anti-ORAIP中和抗体で肺高血圧の改善効果を確認した。右室収縮期圧(53.6 vs. 38.6 mmHg p<0.005)、右室/左室重量比(0.406 vs. 0.324, p<0.05)ともにコントロールと比較して、anti-ORAIP中和抗体治療群で低下していた(図2)。また、組織上も肺動脈の肥厚(0.50 vs. 0.33, p<0.005)が有意に抑えられていた。

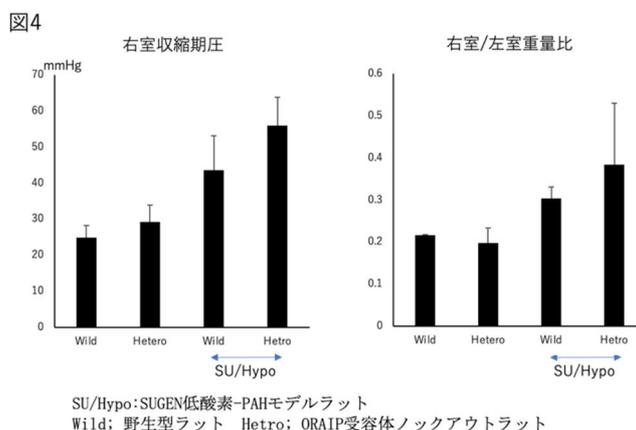


(3)次に、より臨床のPAHの病態に類似しているSUGEN低酸素-PAHモデルラットでanti-ORAIP中和抗体の効果の評価した。SUGEN低酸素-PAHモデルラットの肺組織ではORAIPの発現の上昇は認められず、anti-ORAIP中和抗体を投与しても、肺高血圧の改善効果が認められなかった(図3)。



(4)また、ORAIP受容体ノックアウトラットを用いてSUGEN低酸素-PAHモデルを作成し、PAHの程度を評価した。野生型ラットとORAIP受容体ノックアウトラットでPAHの程度に差は認めなかった(図4)。

ORAIPのPAHへの病態への解明には、今後、さらなる検討が必要と考えられる。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 新規アポトーシス誘導リガンド(ORAIP)を標的とする肺動脈肺高血圧症(PAH)に対する新たな抗体医薬の開発	発明者 世古義規 村山季美 枝 藤村務 前村浩 二 江口正倫 森貴	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、P01172020	取得年 2020年	国内・外国の別 国内

〔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	世古 義規 (SEKO Yoshinori) (30240708)	順天堂大学・大学院医学研究科・客員教授 (32620)	
研究分担者	前村 浩二 (MAEMURA Koji) (90282649)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授 (17301)	

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