

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H02535

研究課題名(和文)肺高血圧症の新規標的蛋白に関する基礎的・臨床的研究

研究課題名(英文)Basic and clinical research on novel targets of pulmonary arterial hypertension

研究代表者

下川 宏明(Shimokawa, Hiroaki)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00235681

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 31,900,000円

研究成果の概要(和文)：肺動脈性肺高血圧症(PAH)は重篤かつ致死的であり、本質的治療薬の開発が待ち望まれている。PAHの血管平滑筋細胞は癌類似の増殖性を有し、肺動脈抵抗血管の狭小化を来す。そこで、患者由来肺動脈平滑筋細胞(PAH細胞)の網羅的遺伝子解析および各種のオミックス解析により新規病因蛋白の探索を進め、合成病因蛋白によるPAH細胞増殖性試験、血管平滑筋特異的遺伝子欠損マウスでの検証を行い、複数の新規病因蛋白を同定した。また、一部の病因蛋白は血漿中に分泌されることが分かり、患者血清中濃度が、予後予測能を有することが判明した。このように、PAH患者由来の臨床検体を用いた基礎研究の臨床応用研究を進めた。

研究成果の概要(英文)：Pulmonary arterial hypertension (PAH) is characterized by histological changes in the distal pulmonary arteries. In addition to genetic considerations, many environmental factors are involved in the development of PAH. All of these factors constitute complex interactions that affect pulmonary vasculature in a multi-stage manner. Thus, the identification of genes, which cause the abnormal characteristics of PSMCs, should be useful for the development of novel therapies for PAH. The characteristics of PSMCs of PAH patients (PAH-PSMCs) are different from those of healthy controls, in terms of pro-proliferative and anti-apoptotic features, which are similar to those of cancer cells. These features of PAH-PSMCs may be caused by some unknown pathogenic genes that promote PAH. Since conventional pulmonary vasodilators have limited efficacy for the treatment of severe PAH, we have performed a series of screens and found novel therapeutic targets.

研究分野：循環器内科

キーワード：循環器・高血圧 肺高血圧症 医歯薬学 内科系臨床医学 循環器内科学 分子血管学 臨床応用研究

1. 研究開始当初の背景

依然として致死的な肺動脈性肺高血圧症と内科的根治療法の欠如

肺動脈性肺高血圧症は、血管内皮機能低下・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。早期診断は循環器専門医でも難しく、当院のような肺移植実施施設に紹介された時点で、既に終末期にあることも多い。重症患者を救う最終手段は依然として肺移植以外に無いが、ドナー数は限られ、移植まで間に合わない症例が多い。なかでも特発性肺動脈性肺高血圧症患者の多くは急速な進行を示し、高度の肺動脈リモデリングを示すため、内科的多剤併用療法によっても右心不全のコントロールに難渋し、若くして死亡する症例も多い。

2. 研究の目的

肺動脈性肺高血圧症(Pulmonary arterial hypertension, PAH)は、依然として内科的根治療法のない致死性疾患である。東北大学病院は、肺高血圧症・肺移植専門施設としての実績を有し、我々は、長年にわたり、肺高血圧症に対する基礎的・臨床的研究を行ってきた。しかし、肺高血圧症治療薬の多剤併用療法によっても助けられない症例も依然多く、従来の肺血管拡張作用を標的にした治療法以外の新たな病因蛋白の探索と創薬が必要である。我々は、最近、当科にライブラリー化した患者由来肺組織や肺動脈血管平滑筋細胞を網羅的に解析して候補遺伝子・新規病因蛋白の探索を行い、新規病因蛋白を発見した。本研究では、この発見に基づき、全く新しい作用機序からの肺高血圧症の治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

研究計画1として、患者由来肺組織を用いた発現変動遺伝子の網羅的検索を行い、その結果に基づき、研究計画2では、肺高血圧症発症の全く新しい病因候補蛋白を絞り込み、研究計画3において、遺伝子改変マウスを用いた実証と病因蛋白発現抑制に着目した新規薬剤ハイスループット・スクリーニング(HTS)を行う。また、各計画研究において、その臨床的意義を確認するために、当科で得られた患者血清・血漿を用いて、バイオマーカーとして有用な蛋白を優先して選択すると同時に、患者肺微小血管における発現変動の解析を行い、実際の患者における肺高血圧の発症・進展における意義を検討する。

4. 研究成果

肺動脈性肺高血圧症(PAH)は重篤かつ致死的であり、本質的治療薬の開発が待ち望まれている。PAHの血管平滑筋細胞は癌類似の増殖性を有し、肺動脈抵抗血管の狭小化を来す。そこで、患者由来肺動脈平滑筋細胞(PAH細

胞)の網羅的遺伝子解析および各種のオミックス解析により新規病因蛋白の探索を進め、合成病因蛋白によるPAH細胞増殖性試験、血管平滑筋特異的遺伝子欠損マウスでの検証を行い、複数の新規病因蛋白を同定した。さらに、PAH細胞の癌類似の増殖性および病因蛋白の遺伝子発現の両者を抑制する低分子化合物のスクリーニングを行った結果、創薬機構の既存薬ライブラリー3336種の中から複数の低分子化合物を同定し、肺高血圧モデルマウスとラットによる有効性を証明した。また、一部の病因蛋白は血漿中に分泌されることが分かり、患者血清中濃度が、予後予測能を有することが判明した。この基礎研究成果を踏まえ、その阻害薬の投薬対象患者決定と有効性評価を可能とするコンパニオン診断薬の開発を診断薬メーカーと共に進めている。既存薬ライブラリーからスクリーニングに成功したPAH治療薬と組み合わせることで、その有効性を特に発揮できる患者の効率的な選択が可能になる。このように、PAH患者由来の臨床検体を用いた基礎研究の臨床応用研究を、今後も、継続していく。

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31件)全て査読あり

1. Kikuchi N, Satoh K, Kurosawa R, Yaoita N, Md. Elias Al-Mamun, Mohammad Abdul Hai Siddique, Omura J, Satoh T, Nogi M, Sunamura S, Miyata S, Shimokawa H. Selenoprotein P promotes vascular smooth muscle cell proliferation and pulmonary hypertension -A possible novel therapeutic target- Circulation 2018 (in press). doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.033113
2. Satoh K, Shimokawa H. Recent advances in the development of cardiovascular biomarkers. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2018;38:e61-e70. doi: 10.1161/ATVBAHA.118.310226.
3. Kozu K, Sugimura K, Aoki T, Tatebe S, Yamamoto S, Yaoita N, Shimizu T, Nochioka K, Sato H, Konno R, Satoh K, Miyata S, Shimokawa H. Sex differences in hemodynamic responses and long-term survival to optimal medical therapy in patients with pulmonary arterial hypertension. Heart Vessels. 2018 Feb 13. doi: 10.1007/s00380-018-1140-6.
4. Satoh K. AMPK α 2 regulates hypoxia-inducible factor-1 α stability and neutrophil survival to promote vascular repair after ischemia. Circ Res. 120:8-10, 2017. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.310217
5. Satoh T, Satoh K, Yaoita N, Kikuchi N, Omura J, Kurosawa R, Numano K, Md. Elias-Al-Mamun, Mohammad Abdul Hai Siddique, Sunamura S, Nogi M, Suzuki K,

- Miyata S, Morser J, Shimokawa H. Activated TAFI promotes the development of chronic thromboembolic pulmonary hypertension -A possible novel therapeutic target- *Circ Res*. 120:1246-1262, 2017. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.310640
6. Ohtsuki T, Satoh K, Omura J, Kikuchi N, Satoh T, Kurosawa R, Nogi M, Sunamura S, Yaoita N, Aoki T, Tatebe S, Sugimura K, Takahashi J, Miyata S, Shimokawa H. Prognostic impacts of plasma levels of cyclophilin A in patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 37:685-693, 2017. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.308986
7. Shimokawa H, Kikuchi N, Satoh K. Shrinking basic cardiovascular research in Japan: A tip of the iceberg. *Circ Res*. 121:331-334, 2017. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.310845
8. Satoh K. Development of novel therapies for cardiovascular diseases by clinical application of basic research (Review for the 2016 SATO award). *Circ J*. 81:1557-1563, 2017. doi: 10.1253/circj.CJ-17-1029
9. Satoh K, Takahashi J, Matsumoto Y, Tatebe S, Aoki T, Kikuchi Y, Hao K, Ohyama K, Nogi M, Suda A, Kasahara S, Sato K, Ichijo S, Shimokawa H. European society of cardiology (ESC) annual congress report from Barcelona 2017. *Circ J*. 81:1758-1763, 2017. doi:10.1253/circj.CJ-17-1103
10. Aoki T, Sugimura K, Tatebe S, Miura M, Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, Sato H, Koza K, Konno R, Miyata S, Nochioka K, Satoh K, Shimokawa H. Comprehensive evaluation of the effectiveness and safety of balloon pulmonary angioplasty for inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension - Long-term effects and procedure-related complications - *Eur Heart J*. 38:3152-3159, 2017. doi:10.1093/eurheartj/ehx530
11. Kina-Tanada M, Sakanashi M, Tanimoto A, Kaname T, Matsuzaki T, Noguchi K, Uchida T, Nakasone J, Kozuka C, Ishida M, Kubota H, Taira Y, Totsuka Y, Kina SI, Sunakawa H, Omura J, Satoh K, Shimokawa H, Yanagihara N, Maeda S, Ohya Y, Matsushita M, Masuzaki H, Arasaki A, Tsutsui M. Long-term dietary nitrite and nitrate deficiency causes the metabolic syndrome, endothelial dysfunction and cardiovascular death in mice. *Diabetologia*. 60:1138-1151, 2017. doi: 10.1007/s00125-017-4259-6
12. Satake Y, Satoh K, Nogi M, Omura J, Godo S, Miyata S, Saito H, Tanaka S, Ikumi Y, Yamashita S, Kaiho Y, Tsutsui M, Arai Y, Shimokawa H. Crucial roles of nitric oxide synthases in β -adrenoceptor mediated bladder relaxation in mice. *Am J Physiol*. 312:F33-F42, 2017. doi: 10.1152/ajprenal.00137.2016
13. Tatebe S, Sugimura K, Aoki T, Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, Sato H, Koza K, Konno R, Satoh K, Fukuda K, Adachi O, Saito R, Nakanishi N, Morisaki H, Oyama K, Saiki Y, Okada Y, Shimokawa H. The efficacy of a genetic analysis of the BMPR2 gene in a patient with severe pulmonary arterial hypertension and an atrial septal defect treated with bilateral lung transplantation. *Intern Med*. 56:3193-3197, 2017. doi: 10.2169/internalmedicine.8686-16
14. Omura J, Satoh K, Kikuchi N, Satoh T, Kurosawa R, Nogi M, Otsuki T, Koza K, Numano K, Suzuki K, Sunamura S, Tatebe S, Aoki T, Sugimura K, Miyata S, Hoshikawa Y, Okada Y, Shimokawa H. Protective roles of endothelial AMP-activated protein kinase against hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *Circ Res*. 119:197-209, 2016. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.308178
15. Suzuki K, Satoh K, Ikeda S, Sunamura S, Otsuki T, Satoh T, Kikuchi N, Omura J, Kurosawa R, Nogi M, Numano K, Sugimura K, Aoki T, Tatebe S, Miyata S, Mukherjee R, Spinale FG, Kadomatsu K, Shimokawa H. Basigin promotes cardiac fibrosis and failure in response to chronic pressure-overload in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 36:636-646, 2016. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.306686
16. Kudo S, Satoh K, Nogi M, Suzuki K, Sunamura S, Omura J, Kikuchi N, Kurosawa R, Satoh T, Minami T, Ikeda S, Miyata S, Shimokawa H. SmgGDS as a crucial mediator of the inhibitory effects of statins on cardiac hypertrophy and fibrosis -Novel mechanism of the pleiotropic effects of statins- *Hypertension* 67:878-889, 2016. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.07089
17. Yaoita N, Satoh K, Satoh T, Sugimura K, Tatebe S, Yamamoto S, Aoki T, Miura M, Miyata S, Kawamura T, Horiuchi H, Fukumoto Y, Shimokawa H. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 36:1293-1301, 2016. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.306845
18. Yaoita N, Satoh K, Shimokawa H. Novel therapeutic targets of pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 36:e97-e102, 2016. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.308263
19. Minami T, Satoh K, Nogi M, Kudo S, Miyata S, Tanaka S, Shimokawa H. Statins up-regulate SmgGDS through β 1-integrin/Akt1 pathway in endothelial cells. *Cardiovasc Res*. 109:151-161, 2016. doi: 10.1093/cvr/cvv253
20. Shimokawa H, Sunamura S, Satoh K. RhoA/Rho-kinase in the cardiovascular system. *Circ Res*. 118:352-366, 2016. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306532

21. Jiang L, Konishi H, Nurwidya F, Satoh K, Takahashi F, Ebinuma H, Fujimura K, Takasu K, Jiang M, Shimokawa H, Bujo H, Daida H. Deletion of LR11 attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation with medial thickening in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 36:1972-1979, 2016. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.307900
22. Tatebe S, Sugimura K, Aoki T, Miura M, Nochioka K, Miyamichi-Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, Sato H, Satoh K, Fukumoto Y, Shimokawa H. Multiple beneficial effects of balloon pulmonary angioplasty in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circ J.* 80:980-988, 2016. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1212
23. Sato H, Ota H, Sugimura K, Aoki T, Tatebe S, Miura M, Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, Satoh K, Takase K, Shimokawa H. Balloon pulmonary angioplasty improves biventricular functions and pulmonary flow in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circ J.* 80:1470-1477, 2016. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1187
24. Aoki T, Sugimura K, Nochioka K, Miura M, Tatebe S, Yamamoto S, Yaoita N, Suzuki H, Sato H, Kozu K, Miyata S, Satoh K, Shimokawa H. Effects of balloon pulmonary angioplasty on oxygenation in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension - Importance of intrapulmonary shunt. *Circ J.* 80:2227-2234, 2016. doi: 10.1253/circj.CJ-16-0254
25. Sato H, Miura M, Yaoita N, Yamamoto S, Tatebe S, Aoki T, Satoh K, Ota H, Takase K, Sugimura K, Shimokawa H. Pulmonary arterial hypertension associated with congenital portosystemic shunts treated with transcatheter embolization and pulmonary vasodilators. *Intern Med.* 55:2429-2432, 2016. doi: 10.2169/internalmedicine.55.6557
26. Takahashi J, Satoh K, Fukuda K, Sugimura K, Matsumoto Y, Nakano M, Tsuburaya R, Aoki T, Hao K, Nishimiya K, Ito K, Sakata Y, Shimokawa H. Overview of the 80th annual scientific meeting of the Japanese Circulation Society - The past, present and future of cardiovascular medicine in Japan - *Circ J.* 80:1689-1694, 2016. doi: 10.1253/circj.CJ-16-0644
27. Satoh K, Kikuchi N, Kurosawa R, Shimokawa H. PDE1C negatively regulates growth factor receptor degradation and promotes vascular smooth muscle cell proliferation. *Circ Res.* 116:1098-1100, 2015. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306139
28. Satoh K. Cyclophilin A in cardiovascular homeostasis and diseases. *Tohoku J Exp Med.* 235:1-15, 2015. (Review) doi: 10.1620/tjem.235.1
29. Ellawindy A, Satoh K, Sunamura S, Kikuchi N, Suzuki K, Minami T, Ikeda S, Tanaka S, Shimizu T, Enkhjargal B, Miyata S, Taguchi Y, Handoh T, Kobayashi K, Kobayashi K, Nakayama K, Miura M, Shimokawa H. Rho-kinase inhibition during early cardiac development causes arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 35:2172-2184, 2015. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.305872
30. Shimokawa H, Satoh K. 2015 ATVB plenary lecture: translational research on Rho-kinase in cardiovascular medicine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 35:1756-1769, 2015. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.305353
31. Shimokawa H, Satoh K. Light and dark of reactive oxygen species for vascular function. *J Cardiovasc Pharmacol.* 65:412-418, 2015. (Review) doi: 10.1097/FJC.0000000000000159
- 〔学会発表〕(計 250 件)
省略
- 〔図書〕(計 7 件)
1. Satoh K, Sugimura K, Shimokawa H. Rho-kinase as a therapeutic target for pulmonary hypertension. In: Fukumoto Y (ed), *Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension. From Bench to Bedside*, pp. 67-76 (全 670 ページ). Springer Nature, Singapore, 2017.
2. Shimokawa H, Satoh K. Reactive Oxygen Species in Cardiovascular System. *Reactive Oxygen Species in Biology and Human Health*. (book chapter) June 1, 2016 by CRC Press, Reference - 543 Pages - 32 (全 320 ページ) Color & 73 B/W Illustrations, ISBN 9781498735452 - CAT# K26429
3. Satoh K, Shimokawa H. Cyclophilin A: Novel biomarker for oxidative stress and cardiovascular diseases. In: Preedy VR, Patel VB (eds), *General Methods in Biomarker Research and Their Applications*, pp. 405-438(全 820 ページ), Springer Reference, London, 2015.
4. 佐藤 公雄, 下川 宏明. 科学評論社 『循環器内科』特集/SGLT2 心腎連関 解説 Cyclophilin A VoL.82 No.4, p.391 ~ 397 (全 540 ページ). (2017 年 10 月号)
5. 佐藤 公雄, 下川 宏明. 「動脈硬化予防」メディカルビュー社「動脈硬化の臨床評価指標」VoL.15(No.4): p.82 ~ 84 (全 210 ページ), 2016 年 12 月.
6. 佐藤 公雄. 南江堂「循環器専門医」(2016 年 2 月) 「喫煙と循環器疾患 up to date: 喫煙による酸化ストレスと動脈硬化性疾患」VoL.24(No.1): p.134 ~ 138 (全 190 ページ), 2016 年 2 月.
7. 佐藤 公雄, 下川 宏明. 科学評論社 『循環器内科』特集/循環器疾患と分子遺伝学 (2015 年 4 月) 肺高血圧症の分子基盤 第 77 巻第 4 号 p.285 ~ 291(全 430 ページ), 2015.4.

〔産業財産権〕

出願状況（計6件）

1.名称：セレノプロテインP活性阻害作用を有する成分を含有する、肺高血圧症の予防又は治療剤

発明者：下川宏明、佐藤公雄、菊地順裕

権利者：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特願 2016-121034

PCT 出願番号：PCT/JP2017/ 12713

出願年月日：2016年（平成28年）6月17日

国内外の別：国内外

2.名称：生薬成分を含む肺高血圧症の予防又は治療剤

発明者：下川宏明、徳山英利、植田浩史、青木淳賢、土井隆行、可野邦行、佐藤公雄、黒澤亮

権利者：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特願 2016-120901

PCT 出願番号：PCT/JP2017/12717

出願年月日：2016年（平成28年）6月17日

国内外の別：国内外

3.名称：不飽和複素5員環含有化合物を含有する肺高血圧症の予防又は治療剤

発明者：下川宏明、大島吉輝、菊地晴久、青木淳賢、土井隆行、可野邦行、佐藤公雄、黒澤亮

権利者：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特願 2016-140474

PCT 出願番号：PCT/JP2017/25822

出願年月日：2016年（平成28年）7月15日

国内外の別：国内外

4.名称：PPAR アゴニストを含有する、肺高血圧症の予防又は治療剤

発明者：下川宏明、佐藤公雄、佐藤大樹

権利者：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特願 2016-141942

PCT 出願番号：PCT/JP2017/26313

出願年月日：2016年（平成28年）7月20日

国内外の別：国内外

5.名称：生薬成分を含む肺高血圧症の予防又は治療剤

発明者：下川宏明、佐藤公雄、黒澤亮

権利者：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特願 2016-160588

PCT 出願番号：PCT/JP2017/29685

出願年月日：2017年（平成29年）8月18日

国内外の別：国内外

6.名称：メベンダゾール及びノもしくはイト

ラコナゾール又はその塩を含有する、肺高血圧症の予防又は治療剤

発明者：下川宏明、佐藤公雄、大村淳一、菊地順裕、黒澤亮

権利者：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特願 2017-233034

出願年月日：2017年（平成29年）12月8日

国内外の別：国内

取得状況（計2件）

1.名称：サイクロフィリンAによる心血管疾患の検査方法

発明者：下川宏明、佐藤公雄

権利者：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：

特許第 6316200 号

米国特許；特許第 9,791,461 号

取得年月日：登録日 2017年 10月 17日

国内外の別：国内外

2.名称：肺高血圧症の検査方法

発明者：下川宏明、佐藤公雄、菊地順裕

権利者：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特許第 6188929 号

取得年月日：2017年 8月 10日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.cardio.med.tohoku.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

下川 宏明 (SHIMOKAWA HIROAKI)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00235681

(2)研究分担者

佐藤 公雄 (SATO H KIMIO)

東北大学・高度教養教育・学生支援機構・准教授

研究者番号：80436120