

令和元年6月14日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09127

研究課題名(和文)肺高血圧症に対する新規バイオマーカーの確立

研究課題名(英文)Novel biomarker for pulmonary hypertension

研究代表者

小西 博広(Hakuoh, Konishi)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：50459145

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：血清sLR11濃度が肺高血圧症のバイオマーカーとして確立と肺動脈性肺高血圧症発症メカニズム解明をSugen肺高血圧モデルラットを用いて検討した。肺動脈性肺高血圧症(40症例)において血清sLR11濃度は、10.9ng/mlと正常コントロール群と比較し有意に上昇していた。WHO機能分類では各群間に有意差は認めなかったが6分間歩行距離と血清sLR11濃度は正の相関を認めたことよりsLR11が重症度の指標になる可能性が示唆された。動物実験で、病初期では、肺組織LR11蛋白発現は1.8倍と増加したが、末期では逆に低下していた。以上に結果より、LR11が肺高血圧症のバイオマーカーになる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺高血圧症治療薬は、現在、エンドセリン受容体拮抗剤、ホスホジエステラーゼ(PDE)5阻害薬、PGI2製剤、sGC刺激薬が使用可能であるが、多剤を用いることが推奨されているが、肺動脈病変進行抑制の指標は未だない。肺動脈病変の進行を抑制しているか否かを感度良く判定するバイオマーカーの開発は、医療経済上も高価なPAH治療薬を投与する上で重要であるが、本研究では、肺高血圧治療効果判定に有用な新規バイオマーカーになる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We established serum sLR11 concentration as a biomarker of pulmonary hypertension and elucidated the mechanism of pulmonary arterial hypertension development using Sugen pulmonary hypertension model rat. In pulmonary arterial hypertension (40 cases), serum sLR11 concentration was 10.9 ng/ml, which was significantly increased compared with the normal control group. Although there was no significant difference between the groups in the WHO functional classification, the 6 minute walking distance and the serum sLR11 concentration were positively correlated, suggesting that sLR11 might be an indicator of severity. In animal experiments, lung tissue LR11 protein expression increased to 1.8-fold at the early stage of disease, but was conversely reduced at the terminal stage. The above results suggest that LR11 may be a biomarker for pulmonary hypertension.

研究分野：循環器内科

キーワード：肺高血圧症 バイオマーカー LR11 血管平滑筋細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺動脈性肺高血圧症 (PAH) に対する治療薬が開発され、Quality of life の改善、生存率の改善が見込めるようになった。(Humbert M. Eur Respir J. 2010) しかし PAH 診断時 (平均肺動脈圧 25 mm Hg 以上) には、既に微小肺動脈循環は 30% 以下に減少しており (Lau E M et al. Eur Heart J 2011) 患者の予後を改善するためには、PAH を早期に診断、治療を開始し肺動脈病変の進行を抑制することが重要である。また、PAH 治療薬は、現在、エンドセリン受容体拮抗剤、ホスホジエステラーゼ (PDE) 5 阻害薬、PGI₂ 製剤が使用可能である。効果が不十分な場合、多剤を用いることが推奨されているが、肺動脈病変進行抑制の指標は未だない。肺動脈病変の進行を抑制しているか否かを感度良く判定するバイオマーカーの開発は、医療経済上も高価な PAH 治療薬を投与する上で重要である。現在、国内外のガイドラインで血清学的には BNP/NT-proBNP が挙げられているが、申請者は、PAH 初期病変では中膜肥厚がみられることに注目し、血管平滑筋細胞増殖マーカーである sLR11 濃度が PAH 患者では上昇している可能性を考え、研究着想に至った。臨床研究では、sLR11 濃度が診断及び治療の効果判定のバイオマーカーとして確立できるか、多施設前向きコホート研究を行う。基礎研究では、LR11 欠損マウスを用い、低酸素惹起性肺高血圧発症の抑制、in vitro では、低酸素刺激下で、ヒト肺動脈血管平滑筋細胞 (PAVSMCs) 中の LR11 蛋白発現が上昇している結果を得た。ヒトでみられる病初期 (中膜肥厚) から末期 (plexiform lesion) が観察できる肺高血圧ラットモデルを用い、LR11 と血管病変との関係を解明し、さらに中和抗体を作製し、治療への可能性を試みる。

2. 研究の目的

連携研究者武城は、動脈硬化で LDL receptor relative with eleven binding repeats (LR11) は、可溶性 (s)LR11 として血清中に遊離、血管平滑筋細胞増殖マーカーになると報告した。申請者は肺高血圧症で、動脈硬化同様に肺高血圧症においても、肺動脈中膜平滑筋細胞増殖が生じており、動脈硬化層同様に、血清 sLR11 濃度が上昇すると仮説の元に、次の (1)~(3) の結果を得た。(1) 血清 sLR11 濃度が肺動脈性肺高血圧症患者で上昇。(2) 血清 sLR11 濃度と平均肺動脈圧、肺血管抵抗の相関。(3) LR11 欠損マウスで、低酸素惹起性肺高血圧発症の抑制。本研究では、臨床研究として前向き多施設コホート研究を行い、診断、治療効果判定のバイオマーカーとして確立を目指すと同時に、基礎研究を行い、肺高血圧発症メカニズムへの LR11 の関与を明らかにし、新たな治療薬開発の可能性を探求する。

3. 研究の方法

臨床研究

肺高血圧症を疑う症例対し、血清 sLR11 濃度を測定、PAH の有無及び、肺高血圧症ニース分類 2 群 (左心疾患による肺高血圧症) 3 群 (呼吸器疾患に伴う肺高血圧症) 4 群 (慢性血栓塞栓性肺高血圧症) と鑑別をすることで、血清学的バイオマーカーのカットオフ値を明らかにする。3 年間で目標症例数は、膠原病症例 200 例、門脈圧亢進症例 200 例、基礎疾患を有しない肺高血圧症疑い症例 20 例、慢性血栓塞栓性肺高血圧症 30 例、呼吸器疾患に伴う肺高血圧 50 例、左心疾患に伴う肺高血圧 50 例の計 550 例である。これらの臨床所見と sLR11 濃度を得ることで、PAH 診断に対する sLR11 濃度の感度、特異度、陽性的中率及び陰性的中率が明らかになり、カットオフ値が決定できる。さらに治療効果判定の指標を確立するため、PAH 治療薬を投与前後と治療期間中に sLR11 濃度を測定する。具体的には治療中の PAH 症患者に、3~4 カ月ごとに sLR11 濃度を測定し、sLR11 濃度上昇時、症状増悪時あるいは、心エコー上、推定右室圧が上昇時に、右心カテーテル検査を再検し、平均肺動脈圧、肺血管抵抗と sLR11 濃度

との関係を見ることで、sLR11 濃度が治療効果判定のバイオマーカーとして確立できる。

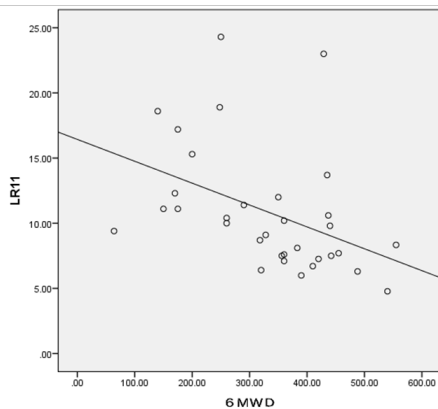
基礎研究

26 年度までに LR11 欠損マウスを用い、低酸素惹起性肺高血圧発症の抑制を証明した。本研究期間ではヒト PAH 病理像を再現するモデルとして開発された肺高血圧ラットモデル(VEGF 受容体拮抗薬 (Sugen 5416) 皮下注 + 低酸素 3 週飼育 + 常酸素 10-11 週飼育)(Abe K.Circulation 2010) を用い、経時的に肺組織中 LR11 発現を分子生物学的手法で解明する。病理所見と LR11 発現の関係を見ることで、実際にヒトでみられる病初期 (中膜肥厚) から末期 (plexiform lesion) で、LR11 がどの時期に発現し重要か、明らかになる。また血清 sLR11 濃度を測定しバイオマーカーとしての有用性を明らかにすることで臨床研究でのバイオマーカーとしての裏付けができる。

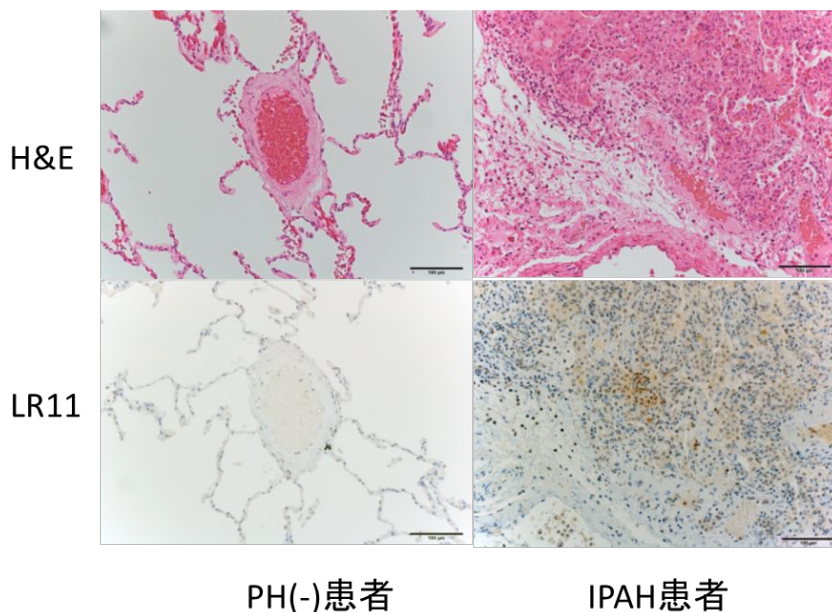
In vitro では、PAVSMCs を 1% 低酸素下培養したところ 48 時間をピークに LR11 蛋白発現の上昇を観察した。また、造血前駆細胞において HIF-1 が LR11 のプロモーター領域に結合部位を持つことを連携研究者武城らが報告している。(Nishii K .J Biol Chem. 2013) 本研究では、PAH においても血管平滑筋細胞増殖に LR11 と HIF-1 が重要な役割を持つ可能性に注目し、低酸素負荷での LR11 発現調節、さらに、中和抗体を作成し、新たなる治療薬を確立する。

4 . 研究成果

肺動脈性肺高血圧症 (40 症例) において血清 s LR11 濃度は、10.9ng/ml と正常コントロール群と比較し有意に上昇していた。WHO 機能分類では各群間に有意差は認めなかったが 6 分間歩行距離と血清 s LR11 濃度は正の相関を認めたことより s LR11 が重症度の指標になる可能性が示唆された。



また、病理像では、PH 患者肺組織では、LR11 蛋白発現が認められた。



2 群 PH での検討では、僧房弁閉鎖不全症肺高血圧(+)群と肺高血圧(-)群では、sLR11 濃度は 14.4 ± 1.1 vs 9.9 ± 0.8 ng/ml; $P=0.002$ と 2 群肺高血圧症においても、上昇を認めた。また、血清 sLR11 濃度と平均肺動脈圧($r=0.9$, $p<0.001$), TPG (transpulmonary gradient) ($r=0.37$, $p=0.02$) 肺血管抵抗($r=0.14$, $p<0.05$)は、相関を認め、肺高血圧 sLR11 濃度が、血管病変進行の指標になる可能性が示唆された。高 sLR11 濃度群 (9.4ng/ml 以上) では、9.4ng/ml 未満群と比較し、予後不良であることも示された。

動物実験で、病初期では、肺組織 LR11 蛋白発現は 1.8 倍と増加したが、末期では逆に低下していた。以上に結果より、LR11 が肺高血圧症のバイオマーカーになる可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Deletion of LR11 Attenuates Hypoxia-Induced Pulmonary Arterial Smooth Muscle Cell Proliferation With Medial Thickening in Mice.

Le Jiang, Hakuoh Konishi, Fariz Nurwidya, Kimio Satoh, Fumiyuki Takahashi, Hiroyuki Ebinuma, Kengo Fujimura, Kiyoshi Takasu, Meizi Jiang, Hiroaki Shimokawa, Hideaki Bujo, Hiroyuki Daida

Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 36 :1972-1979

〔学会発表〕(計 3 件)

2018 年

AHA scientific Sessions

The circulating soluble LR11 level predicts the severity of pulmonary hypertension due to left heart disease.

Kiyoshi Takasu, Hakuoh Konishi, Yusuke Joki, Hiroyuki Daida

2017 年

第 2 回日本肺高血圧肺循環学会学術集会

肺高血圧症における血管平滑筋細胞増殖マーカー LR11 の役割

小西博応 代田浩之

2016 年

European Society of cardiology

Deletion of smooth muscle cell proliferation regulator LR11 attenuates the hypoxia-induced pulmonary arterial remodeling with medial thickening in mice

Hakuoh Konishi, Kiyoshi Takasu, Hiroyuki Daida

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

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、研究者個人に帰属されます。