

令和元年6月11日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09518

研究課題名(和文) トロンビン受容体を標的とする新規肺高血圧治療法の開発

研究課題名(英文) Development of novel therapeutic strategy for the treatment of pulmonary hypertension by targeting thrombin receptor

研究代表者

平野 勝也 (Hirano, katsuya)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：80291516

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ラットおよびマウスの肺高血圧モデル動物の病態が、トロンビン受容体PAR1の拮抗薬の投与あるいはPAR1遺伝子のノックアウトにより改善することを明らかにした。いずれも、肺高血圧に伴う血管肥厚病変、右室肥大が軽減した。また、肺高血圧の病態では肺動脈におけるトロンビン受容体PAR1の発現が亢進し、病態形成に關与することが示唆された。トロンビン受容体PAR1拮抗薬が新たな肺高血圧治療薬として有効である可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺高血圧症とは、右心室から出て肺を循環し、ガス交換を担う肺循環系の血圧が上昇する疾患である。この病気の成り立ちには、血管の収縮、肥厚病変、血栓による肺動脈の閉塞が重要な役割を果たすとされている。現在用いられている治療薬は、血管収縮の軽減を目指した血管拡張薬が主体である。本研究では、上記の3つの病態全てに關与し得ると考えられる凝固因子が作用し、血管収縮や肥厚病変を引き起こすトロンビン受容体PAR1を阻害すると、肺高血圧の病態が改善することを動物実験で明らかにした。PAR1拮抗薬は新たな肺高血圧治療薬と期待される。しかし、肺高血圧患者に安全に使用できるかを明らかにするにはさらなる研究が必要である。

研究成果の概要(英文)：The pathological findings of the murine models of pulmonary hypertension was demonstrated to be suppressed by treatment with an antagonist of thrombin receptor PAR1 and knockout of PAR1 gene. In both cases, the vascular proliferative lesions and right ventricular hypertrophy were ameliorated. Furthermore, the expression of thrombin receptor PAR1 in pulmonary arteries was found to be up-regulated. The receptor upregulation is suggested to contribute to development of pathophysiology. The present study propose a potential of thrombin receptor PAR1 antagonist to serve as a novel therapeutic agent for the treatment of pulmonary hypertension.

研究分野：循環器病学

キーワード：肺高血圧症 トロンビン受容体 受容体拮抗薬 治療薬 遺伝子ノックアウト

1. 研究開始当初の背景

肺高血圧症は、肺血管抵抗の進行性上昇を特徴とし、右心不全から死に至る重篤な疾患である。肺血管抵抗の上昇には、血管収縮、血管リモデリング、血栓（凝固系・血小板）が主要な役割を果たし、抗凝固薬には予後改善効果がある。肺高血圧症の発症に凝固系が重要な役割を果たすことが示唆されるが、その機序には不明な点が残る。

プロスタサイクリン製剤、ホスホジエステラーゼ5阻害剤、エンドセリン受容体拮抗薬などの特異的肺高血圧症治療薬が開発され20余年が経過し一定の予後改善が得られているが、未だ満足すべき状況にはない。新たな視点から発症病理を見直し、それに基づいた治療法の開発が必要である。

凝固系はプロテイナーゼ活性化型受容体を介して血管作用を発揮する。サブタイプ PAR1 はトロンビン受容体として機能し、肺高血圧症の病態形成に関わる内皮作用、平滑筋作用、血小板活性化を引き起こす。研究代表者は、肺動脈は、体循環系動脈と比べて、PAR1 の平滑筋作用が強く生じる特性を持つことを明らかにしたことから、この特性が肺高血圧症の基盤となる可能性があり、PAR1 の視点から肺高血圧症の病態を見直せば、新たな発想に基づく治療薬が開発できるという着想を得た。

2. 研究の目的

本研究では、肺高血圧モデル動物を用いて、肺高血圧症の病態におよぼす PAR1 拮抗薬および PAR1 遺伝子欠損の影響を解析し、肺高血圧症の病態形成における PAR1 の役割を明らかにし、PAR1 阻害の治療的効果を検証する。

3. 研究の方法

肺高血圧モデル動物実験では、ラットモノクローリン誘発肺高血圧モデルおよびマウス低酸素誘発肺高血圧モデルを用いる。モデル動物において、右室収縮期圧（肺動脈圧の指標）、肺血管抵抗などの血行動態の解析、右室肥大、肺動脈中膜肥厚病変や肺動脈細動脈筋性化などの病理学的解析、摘出肺灌流標本および摘出肺動脈標本を用いた PAR1 による平滑筋収縮反応の評価、肺動脈平滑筋における PAR1 の発現変化を解析する。

4. 研究成果

(1) ラットモノクローリン肺高血圧モデルにおいて、PAR1 拮抗薬の投与により、右室収縮期血圧の上昇、肺動脈血管抵抗の亢進、右室肥大の形成が改善し、生存率が延長した(図1)。また、肺動脈の中膜肥厚病変形成も PAR1 拮抗薬によって抑制された。モノクローリンを皮下注した日から PAR1 拮抗薬を投与（予防的投与）する方が、モノクローリン投与2週後の肺高血圧が発症した後に投与（治療的投与）するよりも、改善効果は大きかったが、肺高血圧発症後に治療を開始しても有意な改善効果が得られることが示されたことになる。

リアルタイム PCR 法を用いたメッセンジャーRNA 発現解析において、正常肺動脈平滑筋における PAR1 発現は、体循環系動脈における発現よりも有意に高かった。さらに、モノクローリン誘発肺高血圧モデルラットの肺動脈平滑筋で PAR1 の発現亢進が観察された。正常ラットから摘出した肺動脈標本および肺灌流標本において、トロンビンあるいは PAR1 活性化ペプチドは肺動脈平滑筋収縮作用を発揮した。モノクローリン誘発肺高血圧モデルから摘出した肺灌流標本において、PAR1 活性化ペプチドによる肺動脈収縮作用が増強した。

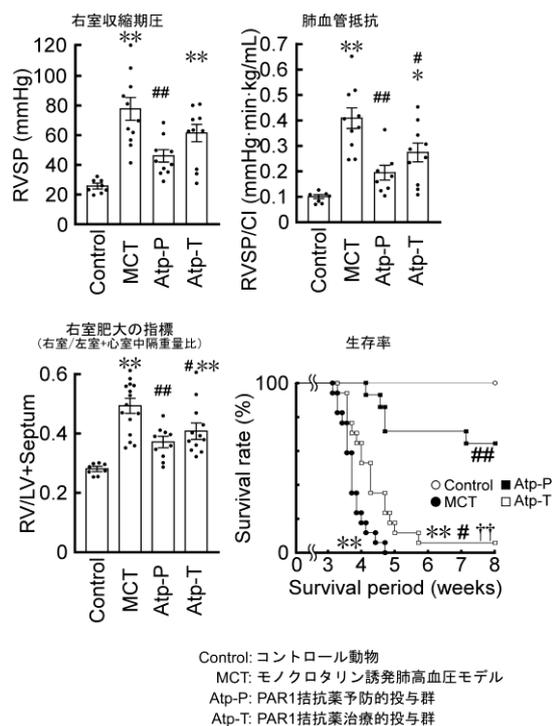


図1 ラットモノクローリン誘発肺高血圧モデルにおける PAR1拮抗薬の予防および治療的効果

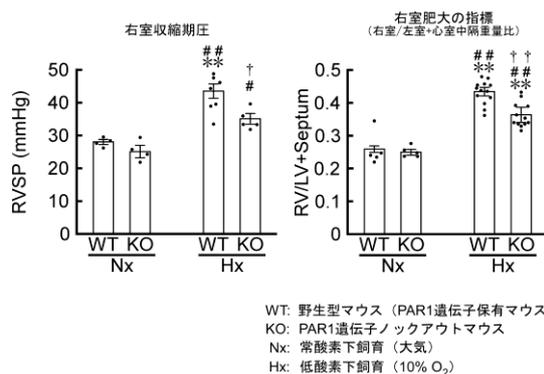


図2 PAR1ノックアウトマウスにおける 低酸素誘発肺高血圧の病態形成の抑制

(2) PAR1 遺伝子を欠損するノックアウトマウスを用いて、低酸素誘発肺高血圧モデルを作製したところ、野生型マウスの場合と比べて、右室収縮期血圧の上昇および右室肥大の程度が減弱した(図2)。また、肺循環系細動脈の筋性化の程度も、ノックアウトマウスにおいて減弱した。一方、常酸素下で飼育した場合、ノックアウトマウスと野生型マウスの血行動態の指標などは同等であった。

(3) 肺高血圧症の病態において PAR1 のアゴニストとして作用する凝固因子を明らかにすることを目的として実施した研究の中で、これまで PAR1 に対するアゴニスト作用が報告されていなかった凝固第 XI 因子にアゴニスト作用があることを初めて明らかにした。培養血管平滑筋細胞 A7r5 において、第 XI 因子は、PAR1 を介して、主に細胞外からのカルシウム流入を引き起こし、細胞遊走を促進させることが明らかとなった(図3)。

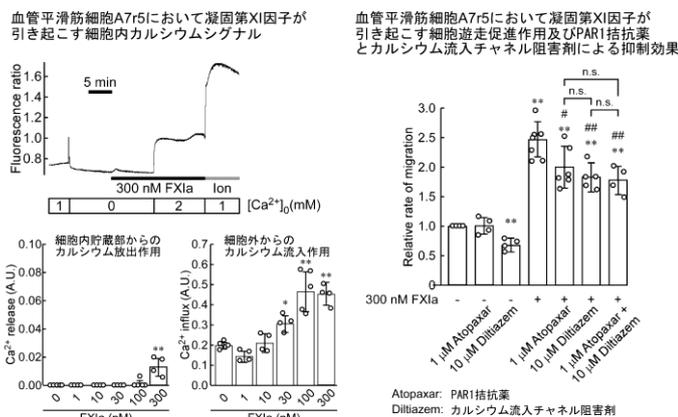


図3 培養血管平滑筋細胞において凝固第XI因子が引き起こす細胞内カルシウムシグナルと細胞遊走促進作用

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計4件)

1. Kuwabara Y, Tanaka M, Abe K, Hirano M, Hirooka Y, Tsutsui H, Sunagawa K, Hirano K. Proteinase-activated receptor 1 antagonism ameliorates experimental pulmonary hypertension. *Cardiovasc Res* (印刷中: 2018年11月13日オンライン公表済み)
2. Liu W, Hashimoto T, Yamashita T, Hirano K. Coagulation factor XI induces Ca²⁺ response and accelerates cell migration in vascular smooth muscle cells via proteinase-activated receptor 1. *Am J Physiol Cell Physiol* 316(3): C377-C392, 2019
3. 平野勝也. プロテイナーゼ活性化型受容体の血管生物学. *医学のあゆみ* 256 (5): 489-494, 2016
4. 平野勝也, 山村彩. 肺循環薬理学研究の最前線・序文. *日本薬理学雑誌* 148 (5): 225, 2016

[学会発表] (計12件)

招待講演

1. 平野勝也. 肺高血圧症の病態形成におけるトロンビン受容体 PAR1 の役割. 第20回日本心血管内分分泌代謝学会学術集会シンポジウム「心血管内分分泌学の新展開」. 2016年12月17日
2. 平野勝也. トロンビン受容体を標的とする新規肺高血圧治療の提案. 第46回日本心臓血管作動物質学会シンポジウム「心臓血管作動物質の新展開」. 2017年2月11日
3. 平野勝也. 肺循環系におけるトロンビン受容体の特性と肺高血圧における役割. 第2回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会シンポジウム「肺高血圧症～基礎研究領域の最新知見」. 2017年6月3日
4. Hirano K. Physiology and pathophysiology of thrombin receptor in pulmonary circulation. 第95回日本生理学会大会シンポジウム「平滑筋生理学から病態生理学へのトランスレーション」. 2018年3月30日
5. Hirano K, Liu W. Novel role of coagulation factor XI as a regulator of vascular smooth muscle function. Symposium 21: New Paradigm in Physiology and Pathophysiology of Coagulation-fibrinolysis System, The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Society Congress (FAOPS2019). 2019年3月29日

国際会議

6. Kuwabara Y, Tanaka M, Abe K, Hirano M, Hirooka Y, Sunagawa K, Hirano K. Specific and increased expression of thrombin receptor PAR1 in pulmonary artery plays a key role in the pathogenesis of monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *American Heart Association Scientific Session* 2016. 2016年11月14日
7. Liu W, Hashimoto T, Yamashita T, Hirano K. A role of coagulation factor XI as a regulator of vascular smooth muscle migration. 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology. 2018年7月4日
8. Liu W, Hashimoto T, Yamashita T, Hirano K. A novel function of activated coagulation

factor XI as a regulator of intracellular Ca²⁺ signal and cell migration in vascular smooth muscle cells. American Heart Association Scientific Session 2018. 2018 年 11 月 12 日

一般演題

9. 平野勝也、桑原志実、阿部弘太郎、平野真弓. モノクロタリン誘発肺高血圧症におけるトロンビン受容体 PAR1 の発現亢進とトロンビンの肺動脈収縮作用の増強. 第 129 回日本薬理学会近畿部会. 2016 年 6 月 24 日
10. 平野勝也、桑原志実、阿部弘太郎、平野真弓. モノクロタリン誘発肺高血圧モデルにおけるトロンビン受容体 PAR1 の肺動脈収縮作用の亢進. 第 58 回日本平滑筋学会総会. 2016 年 8 月 17 日
11. 平野勝也、桑原志実、田中真理子、阿部弘太郎、平野真弓. 実験的肺高血圧症に対するプロテイナーゼ活性化型受容体 1 (PAR1) 拮抗薬の治療的効果. 第 59 回日本平滑筋学会総会. 2017 年 8 月 24 日
12. 平野勝也、桑原志実、田中真理子、阿部弘太郎、平野真弓. トロンビン受容体 PAR1 の阻害は肺高血圧症の病態形成を抑制する. 第 132 回日本薬理学会近畿部会. 2017 年 11 月 24 日

〔図書〕 (計 1 件)

1. Hirano K. The unique property of the pulmonary artery regarding the smooth muscle effects of proteinase-activated receptor 1: The possible contribution to the pathogenesis of pulmonary hypertension. In Diagnosis treatment of pulmonary hypertension - From bench to bedside, ed Fukumoto Y, Springer Singapore, Singapore, 77-87, 2017

〔産業財産権〕

○取得状況 (計 1 件)

名称：トロンビン受容体アンタゴニストを有効成分とする肺高血圧症の予防治療剤

発明者：平野勝也、阿部弘太郎、平野真弓

権利者：エーザイ・アール・アンド・ディー・マネジメント株式会社、国立大学法人九州大学

種類：特許

番号：特許第 6243844 号

取得年：平成 29 年 11 月 17 日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究分担者：なし

(2) 研究協力者：6 名

研究協力者氏名：桑原志実、阿部弘太郎、平野真弓、劉文華、橋本剛、山下哲生

ローマ字氏名：Yukimitsu Kuwabara, Kohtaro Abe, Mayumi Hirano, Wenhua Liu, Takeshi Hashimoto, Tetsuo Yamashita