

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17616

研究課題名（和文）肺高血圧症とパラトルモンの関連性についての検討

研究課題名（英文）A critical role of parathyroid hormone in the development of pulmonary hypertension

研究代表者

上木 裕介（Joki, Yusuke）

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：40837390

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では副甲状腺ホルモン(PTH)が肺高血圧症(PH)に対して臓器連関を有するか検討を行った。臨床検討でPH症例の血中PTHを測定したところ、PTH濃度は肺血行動態と相関関係を認めた。基礎検討ではPTHの制御が肺血行動態に与える影響を検討し、低酸素誘発PHマウスにPTH投与を行ったところ右室負荷が増悪、一方Sugen/Hypoxia PHラットに副甲状腺摘出術を行いPTHを低下させると右室負荷が軽減した。またPTH受容体は肺動脈平滑筋に多く存在し、細胞実験でPTHは肺動脈平滑筋細胞に、直接作用を有する事が示された。以上の結果からPTHの制御は新規PH治療戦略への応用につながる事が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果からPTHが肺血管に直接作用し、PHへ関与している事が示唆された。臨床検討の結果から血中PTH濃度は肺血行動態と相関関係を認めており、今後PH症例のバイオマーカーや予後予測因子として応用できる可能性がある。また基礎検討からPTHの制御はPHに対して有用である結果が得られた。今後PTH制御法が新規PH治療戦略へつながる事が期待される。

研究成果の概要（英文）：We investigated whether parathyroid hormone (PTH) associates with pulmonary hypertension (PH). In a clinical study, serum level of PTH correlated with mean pulmonary arterial pressure and pulmonary vascular resistance. In the basic study, we examined the effect of PTH regulation on pulmonary hemodynamics. In hypoxia-induced PH mouse model, PTH treatment exacerbated right ventricular hypertrophy and increased right ventricular systolic pressure. By contrast, PTH reduction by parathyroidectomy reduced right ventricular overload in sugen/hypoxia-induced PH rat model. We showed PTH receptors are abundant in pulmonary artery smooth muscle in lung, moreover PTH has a direct effect on pulmonary artery smooth muscle cells that PTH promoted migration and proliferation through ERK signaling. Our clinical and experimental data demonstrated a critical role of PTH in the development of PH and suggested that PTH would be a novel therapeutic target for PH treatment.

研究分野：肺高血圧症

キーワード：肺高血圧症 副甲状腺ホルモン PTH

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺高血圧症(PH)は肺動脈圧の平均値が 25mmHg 以上となる病態の総称で、慢性かつ進行性の難病である。2000 年以前は極めて予後不良疾患であったが、近年のたゆまぬ研究成果により病態が少しずつ明らかとなり、肺血管拡張薬の進歩に伴ってその予後は飛躍的に改善した。しかし発症機序や増悪原因を未だ解明できていない点も多く、早期診断に有用なバイオマーカーも未だ実用化されていないのが現状である。

肺高血圧症はその成因から第 1 群：肺動脈そのものに原因のある肺動脈性肺高血圧症、第 2 群：左心性心疾患に伴う肺高血圧症、第 3 群：肺疾患に伴う肺高血圧症、第 4 群：慢性血栓塞栓性肺高血圧症、第 5 群：多因子のメカニズムに伴う肺高血圧症の 5 つの群に分類される。慢性腎臓病(CKD)は肺高血圧症の第 5 群に属しており、腎機能障害が高度になるほど体液貯留が多くなるため、右心負荷である PH も高度となる(Lancet 2010)。副甲状腺ホルモン、パラトルモン(PTH)は骨代謝を制御するホルモンの一つで、腎機能障害と相関し血中濃度が増加する事が知られている。そのため以前から腎機能障害、透析患者において右心負荷である PH の重症度と血中 PTH 濃度が相関する報告がなされていた(BMC Nephrology 2018) 。しかし近年、冠動脈疾患や心不全などの心血管系疾患において、PTH 濃度は腎機能が保たれた症例においても独立した予後予測因子であり(Circulation 2009) 、また基礎的検討においても PTH が血管内皮細胞や心筋細胞に対して直接作用を有する事が報告されている(AJP-Renal Physiol 2007) (Experimental Biology and Medicine 2016)。そこで申請者は PTH が PH に対しても心血管疾患と同様に、直接的な臓器連関があるのではないかと仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、骨代謝制御ホルモンである PTH と肺高血圧症の関連を明らかにし、PTH が肺血行動態へ及ぼす影響を検討することである。

3. 研究の方法

(1) 臨床研究

血中 PTH 濃度と肺高血圧症との相関性の評価を行った。

腎機能障害が認められない肺高血圧症例が疑われた症例に対して、心臓超音波、右心カテーテルで得られた右心負荷と PTH を含めた骨代謝マーカーとの関連性を検討した。2019 年から 2022 年にかけて症例を収集し、30 症例の解析を行った。

(2) 基礎研究

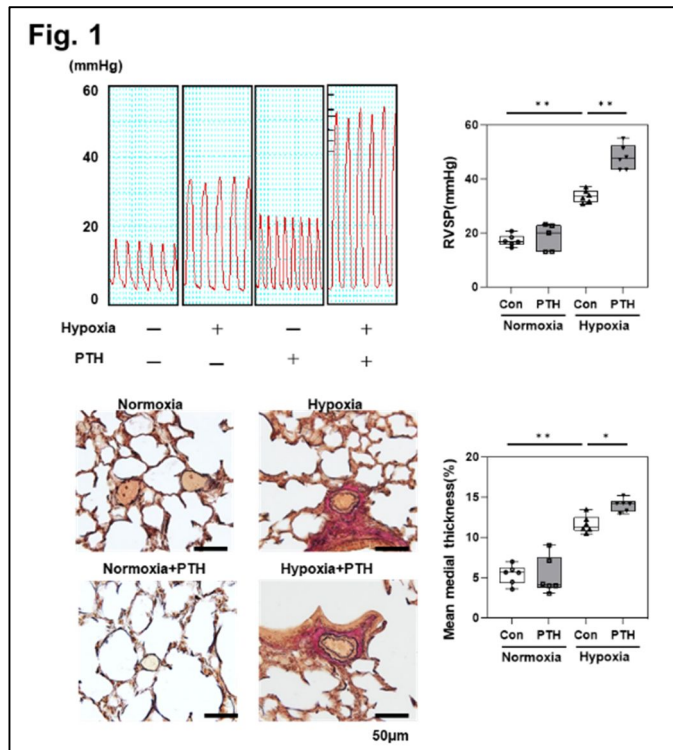
肺高血圧症動物モデルを用いた PTH 作用の評価として以下のモデルで検討を行った。

- ・低酸素誘発肺高血圧マウスモデル：3 週間の低酸素刺激による肺高血圧モデルのマウスにおいて PTH 製剤の投与(40µg/日、3 週間皮下注)が PH に及ぼす影響を検討。
 - ・長期の肺高血圧動物実験モデルである肺高血圧ラット(VEGF 受容体拮抗薬(sugen5416)皮下注 + 低酸素刺激 3 週飼育+常酸素 7 週間飼育) に対して誘発前に副甲状腺摘出術(PTx)を行い、PTH 減少下における肺高血圧への影響を検討。
- PASMC における PTH 作用の検証を行った。
- PTH の PASMC への増殖作用を ELISA や Incucyte を用いて検討。
- 細胞シグナルを解析するため、PASMC に PTH 刺激を行い、ウェスタンブロット法や細胞内カルシウムアッセイ、cAMP ELISA を用いて細胞内カルシウム濃度の変化を測定。
- PTH には様々な受容体が存在するが、骨や腎臓には 7 回膜貫通型の PTH 受容体(PTHr)を介して標的細胞に作用していることが分かっている。PASMC にも同様の受容体を介しているかを検討するため shRNA による PTHr ノックダウンを行い、PTH の作用がキャンセルされるかを検討する。

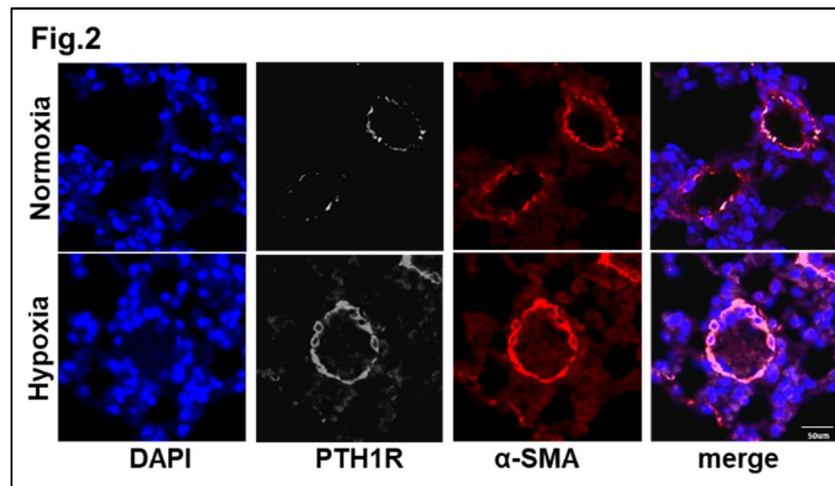
4. 研究成果

(1) 臨床検討で PH が疑われ右心カテーテルを施行された、腎機能が正常な 30 症例に対し血中 PTH 濃度を測定し、右心系の血行動態との関連性を解析した。その結果、血中 PTH 濃度は右心負荷の指標である平均肺動脈圧(mPAP)や肺血管抵抗(PVR)と相関を認め、ROC 解析において PTH が高い精度を持って PH を診断できる事が分かった。

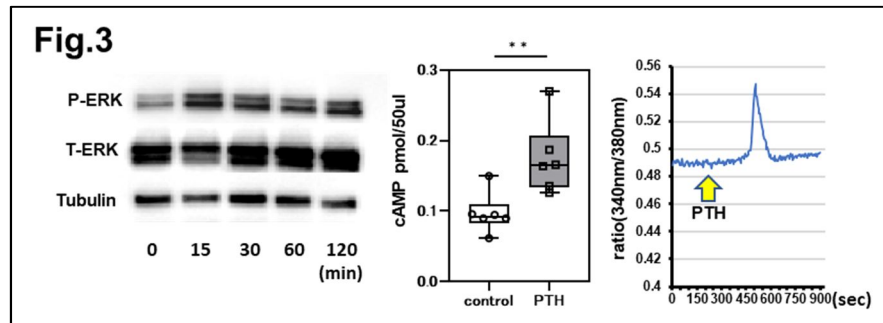
(2) 基礎検討においては低酸素誘発肺高血圧マウスに PTH を投与すると、投与群は非投与群と比較し有意に肺動脈圧の上昇を認め、また右室負荷の指標となる右室重量/左室 + 心室中隔重量比(Fulton index)が PTH 投与群において有意に増加していた(Fig.1)。また PTx により PTH が減少すると SuHx ラットモデルの右室収縮期圧上昇は抑制され、Fulton index も減少した。



PTH は骨細胞などでは PTH 受容体(PTH1R)に結合し、細胞内シグナルを伝えることが分かっている。そこで肺組織内における PTH1R の局在を蛍光免疫染色で検討したところ、肺動脈平滑筋層に一致して発現していることが確認され、さらに低酸素刺激により受容体発現の亢進を認めていた (Fig.2)。また細胞実験においても PASMC を 1%低酸素下に晒すと RNA レベル、蛋白レベルで PTH1R の上昇認めた。また PTH1R のプロモーター領域に低酸素誘導因子である HIF1 α が siRNA やアデノウイルスベクターを用いて HIF1 α を上昇あるいは低下させると、PTH1R も HIF1 α と同様の変動を認めた。このことから低酸素は HIF1 α を介して PTH1R の発現を上昇させることが分かった。



PASMC に PTH を投与することで、肺高血圧症の主病態の一つである PASMC の細胞増殖を量依存的に誘導させる結果が得られた。引き続き遊走能への影響を検討したところ PTH 投与により遊走能の亢進を認めていた。次に細胞内シグナルを検討したところ PTH 投与により cAMP の上昇、細胞内 Ca の上昇、ERK のリン酸化亢進を認めた (Fig.3)。一方 PTH1R を shRNA でノックダウンさせると増殖効果はキャンセルされた。



以上から本研究結果により、血中 PTH 濃度が PH の病状を反映し、肺動脈において PTH が直接的な影響を及ぼしている事が明らかとなった。今後、さらに大規模臨床検討で血中 PTH 濃度が PH のバイオマーカーとして重症度や予後予測の評価が可能か検討する。また基礎検討から PTH の制御は PH に有用である事が示唆されており、血中 PTH 濃度の制御や PTH 受容体を標的とした新規治療戦略、創薬へ応用されることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Yusuke Joki, Hakuoh Konishi, Kiyoshi Takasu, Tohru Minamino
2. 発表標題 副甲状腺ホルモンの肺高血圧症へ与える役割の解明
3. 学会等名 第262回 日本循環器学会関東甲信越地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yusuke Joki, Hakuoh Konishi, Kiyoshi Takasu, Tohru Minamino
2. 発表標題 肺高血圧症と副甲状腺ホルモンの関連性についての検討
3. 学会等名 第50回日本心臓血管作動物質学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yusuke Joki, Hakuoh Konishi, Kiyoshi Takasu, Tohru Minamino
2. 発表標題 肺高血圧症と副甲状腺ホルモンの関連性についての検討
3. 学会等名 第6回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yusuke Joki, Hakuoh Konishi, Kiyoshi Takasu, Tohru Minamino
2. 発表標題 A critical role of parathyroid hormone in the development of pulmonary hypertension.
3. 学会等名 AHA Scientific Sessions 2021 Web meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1 . 発表者名 Yusuke Joki, Hakuoh Konishi, Kiyoshi Takasu, Tohru Minamino
2 . 発表標題 Soluble LR11 level is correlates with the severity of pulmonary hypertension due to left heart disease.
3 . 学会等名 30th International Congress of the European Respiratory Society Web meeting (国際学会)
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 Yusuke Joki, Hakuoh Konishi, Kiyoshi Takasu, Tohru Minamino
2 . 発表標題 Tofogliflozin improves pulmonary hypertension due to heart failure with preserved ejection fraction in mice.
3 . 学会等名 AHA Scientific Sessions 2020 Web meeting (国際学会)
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 Yusuke Joki, Hakuoh Konishi, Kiyoshi Takasu, Tohru Minamino
2 . 発表標題 Tofogliflozin improves pulmonary hypertension due to heart failure with preserved ejection fraction in mice.
3 . 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会 (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 Yusuke Joki, Hakuoh Konishi, Kiyoshi Takasu, Tohru Minamino
2 . 発表標題 A critical role of parathyroid hormone in the development of pulmonary hypertension.
3 . 学会等名 第24回日本心血管内分泌代謝学会 YIA候補講演 (国際学会)
4 . 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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