

令和 4 年 5 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17623

研究課題名（和文）肺動脈性肺高血圧症の新規治療法の開発

研究課題名（英文）Elucidating the pathogenesis of childhood-onset pulmonary hypertension through multifaceted pathological investigation based on deep learning

研究代表者

永井 礼子（Nagai, Ayako）

北海道大学・大学病院・医員

研究者番号：10622160

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）：最初に肺動脈性肺高血圧症（PAH）の新規治療薬候補Xを効率的に肺動脈平滑筋細胞へ封入するためのナノカプセルを作製した。この薬剤X封入ナノカプセルは薬剤Xを単独で投与する場合と比較して、PAH患者の肺動脈平滑筋細胞の増殖を有意に抑制した。次に、肺動脈性肺高血圧症モデルラットを作製し、薬剤X封入ナノカプセル投与群、コントロールナノカプセル投与群、非投与群の3群で心臓カテーテル検査を行ったところ、薬剤X封入ナノカプセル投与群で有意に右室圧低下およびFulton index改善を認めた。今後は各群の肺病理像を評価し、薬剤X封入ナノカプセルのPAH治療薬としての有効性をさらに検証することとしている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、PAHに対して既存の系統とは別の介入経路を見出そうとする研究が、国内外で散見されているが、その応用については、いまだ多数のハードルがあり、実現は困難な状況である。本研究が目指す、既存の治療薬の介入経路とは異なるメカニズムでPAHの改善に寄与し、かつナノカプセルにより薬理効果を純粋に活用する研究は国内外ともに皆無である。本研究はPAHの新たな治療法の開発に寄与するものであり、また、これまでに確立されているPAH治療薬の介入経路とは全く異なる経路からのアプローチであるため、既知の治療薬との併用による、治療効果のさらなる向上も期待できる。

研究成果の概要（英文）：First, drug X-encapsulated nanocapsules were fabricated to efficiently encapsulate drug candidate X, a novel therapeutic agent for pulmonary arterial hypertension (PAH), into pulmonary artery smooth muscle cells. Compared to drug X administered alone, the drug X-encapsulated nanocapsules significantly inhibited the proliferation of pulmonary arterial smooth muscle cells of PAH patients. Next, a rat model of PAH was created. The model rats were divided into three groups: a group treated with Drug X-included nanocapsules, a control group treated with empty nanocapsules, and a non-treated group, and were examined by cardiac catheterization. The results showed that right ventricular pressure was significantly decreased and Fulton index was significantly improved in the group treated with the drug-X-encapsulated nanocapsules. The investigators plan to evaluate the pulmonary pathology in each group to further validate the efficacy of Drug X-encapsulated nanocapsules as a treatment for PAH.

研究分野：小児循環器学

キーワード：肺動脈性肺高血圧症

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 (pulmonary arterial hypertension: PAH) は肺小動脈の血管内皮細胞・平滑筋細胞が異常に増殖することによって血管内腔が狭窄して肺血管抵抗が上昇し、右心不全が惹起される予後不良の疾患である。これまでにさまざまな PAH 治療薬が開発され、実用化されている。既存の PAH 治療の介入経路は主に(A)プロスタサイクリン系、(B)エンドセリン系、(C)一酸化窒素系の3群に分類され、いずれも血管拡張作用と抗細胞増殖作用をもたらすことが明らかになっている。このうち(A)にあたるエポプロステノールは現在までのところ、PAHの予後を最も大きく改善させた薬剤である。しかし、エポプロステノールは輸液ポンプを用いた精密持続静注が必要な薬剤であり、このために導入を断念する患者も多く存在する。また、体血圧低下、頭痛、甲状腺機能異常等、使用中止や減量の原因となりうる副作用も多い。近年(B)(C)の開発も目覚ましく、これらの薬剤を複数組み合わせる combination therapy も成果をあげている。しかし、それでもなお PAH 発症後5年までに死亡もしくは肺移植を必要とする患者が、約30%存在することが知られており (Farber et al. Chest 2015) することが知られており、肺移植件数が比較的少ない本邦では PAH は指定難病に認定されている。このため、PAH に対するさらなる有効な治療法の開発が待たれている。申請者は、これまでの自身の研究成果を元に p53 シグナル伝達経路に着目し、この既存の PAH 治療薬とは全く異なる標的である p53 シグナル伝達経路に影響を与える薬剤に、PAH を改善させる効果があるか否かを検証する研究を実施することとした。

2. 研究の目的

本研究の目的は、PAH の新規治療法を確立することである。これまでさまざまな PAH 治療薬が開発され、PAH の予後は大きく改善してきているが、死亡もしくは肺移植に至る患者がいまだ多数存在する。本研究では他疾患の治療薬としての地位が既に確立しており、かつ PAH の発症メカニズムに関与する可能性の高い複数の候補薬剤が PAH の病態にもたらす影響を解明し、さらに肺動脈に対する最適な drug delivery system (DDS) を開発することで PAH の新たな治療法を創出する。

3. 研究の方法

【予備実験】新規 PAH 治療薬候補であり、p53 シグナル伝達経路に作用することが判明している薬剤 X を直接添加した液体培地を用いて健常者および *BMPR2* 変異 p.R899X (*BMPR2* は PAH の主要な原因遺伝子) を有する PAH 患者のヒト肺動脈平滑筋細胞 (human pulmonary arterial smooth muscle cells: hPASMCs) を培養し、その増殖能などへの影響を検討する。

【STEP1: 肺動脈に最適なナノカプセルの構築】hPASMCs およびヒト肺動脈内皮細胞 (human pulmonary arterial endothelial cells: hPAECs) への導入能を有するナノカプセルを開発する。候補薬剤 X を hPASMCs、hPAECs と親和性のある脂質膜で多重化し、ナノカプセルの粒子サイズ、表面電位を測定し、物性の最適化を図る。

【STEP2: hPASMCs, hPAECs を用いた薬剤効果解析】健常者および PAH 患者の hPASMCs および hPAECs を培養し、蛍光標識を施した各種候補薬剤ナノカプセルを導入し、hPAECs と hPASMCs それぞれについて導入能の評価、細胞内動態観察を行う。さらに各細胞の増殖能、アポトーシス細胞の増加の有無等についても検討する。

【STEP3: 動物を用いた薬剤効果解析】薬剤 X 封入ナノカプセルを既に作製方法を確立されている PAH モデルラットに投与し、各群の右室圧、右室左室重量比 (Fulton index)、小肺動脈の壁厚の変化等を、薬剤 X 封入ナノカプセル投与群、コントロールカプセル投与群、非投与群間で比較することで、PAH の治療効果を in vivo 環境で判定する。

4. 研究成果

予備実験において、候補薬剤 X は容量依存性に hPASMCs の増殖抑制、アポトーシスの増加、細胞生存性の低下をもたらした。さらに健常者の hPASMCs と *BMPR2* 変異 p.R899X を有する PAH 患者の hPASMCs で比較した場合、*BMPR2* 変異を有する PAH 患者の hPASMCs では低用量の薬剤 X でもアポトーシスが惹起されることを明らかにした。次に、候補薬剤 X を効率的に hPASMCs へ封入するための、ナノカプセル作製を実施した。一定の比率で2種類の脂質を組み合わせたりポソームに薬剤 X を封入し、さらにある修飾因子を付与することで、hPASMCs 内に薬剤 X 封入ナノカプセルが容易に到達できることを確認した。次に、培養した hPASMCs に薬剤 X 封入ナノカプセルを投与し、その増殖能に与える影響を検討した結果、さまざまに検討した中でとある組成で作製された薬剤 X 封入ナノカプセルは、薬剤 X を単独で投与する場合と比較して、PAH 患者の hPASMCs の増殖を有意に抑制することが明らかになった。また、この薬剤 X 封入ナノカプセルは、健常者の hPASMCs および hPAECs の増殖には影響を与えなかった。次に、PAH モデルラットを作製し、薬剤 X 封入ナノカプセル投与群、コントロールナノカプセル投与群、非投与群の3群に分けて心臓カテーテル検査を行ったところ、薬剤 X 封入ナノカプセル投与群では他の2群と比較して、右室圧

低下および Fulton index(右室重量と左室および心室中隔重量の比)の改善を認めた。今後、各群の肺病理像を評価し、薬剤 X 封入ナノカプセルの、肺動脈性肺高血圧症治療薬としての有効性をさらに検証することとしている。

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

〔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
---------	---------