

平成 28 年 10 月 3 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462446

研究課題名(和文)VIP受容体VPAC2 選択的アゴニストを用いた肺高血圧症治療

研究課題名(英文)Role of VPAC2 receptor in monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats

研究代表者

川上 裕理 (KAWAKAMI, Hiromasa)

横浜市立大学・附属市民総合医療センター・助教

研究者番号：90407958

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：VIPはVPAC1、VPAC2受容体を持ちPACAPをこれら受容体を共有する。これら受容体選択的アゴニスト等によるモノクロタリンMCT肺高血圧モデルへの影響を検討した。MCTにおいてVPAC2選択的アゴニストBAY55-9837はVIPに比較し右室圧低下作用が強く、また心拍出量も増加させることが示された。VPAC1選択的アゴニストは右室圧低下作用を認めなかった。本研究はVPAC2受容体の肺高血圧における新たな役割を示し、選択的アゴニストの治療薬としての可能性が示唆された。MCTモデル以外の肺高血圧症における役割の解明や、適切な投与方法の検討が今後の課題である。

研究成果の概要(英文)：VIP and PACAP have pulmonary vasodilatory and positive inotropic. VIP is a promising option for PH treatment; however, various physiological effects of VIP have limited its clinical use. We investigated the effects of VPAC1 and VPAC2 selective agonists, VIP and PACAP to explore treatment for PH. We examined hemodynamic changes in right ventricular systolic pressure (RVSP), systemic blood pressure (SBP), total pulmonary resistance index (TPRI), total systemic resistance index, and cardiac index (CI) in response to their agonists. In MCT-induced PH, decreased VIP and PACAP were associated with upregulation of VPAC1, VPAC2, and PAC1 in lung tissues. Intravenous injection of VPAC2-selective agonist BAY 55-9837 and VIP, but not [Ala11,22,28]VIP, improved the CI. Activation of VPAC2 receptor with BAY 55-9837 effectively improved RVSP, TPRI, and CI in MCT-induced PH, suggesting a VPAC2 agonist as a possible promising treatment for PH.

研究分野：麻酔

キーワード：肺高血圧 VIP VPAC2

### 1. 研究開始当初の背景

原発性、二次性肺高血圧症は周術期心血管イベントリスクを明らかに増加させる。肺血管抵抗を低下させる管理として、慢性期にはPGI<sub>2</sub> 持続静注等の血管拡張薬等が用いられるが、周術期リスクを低下させるかは不明であった。NO 吸入はメトクロピン血症、血小板機能低下等のため短時間しか使用できず、適応は新生児先天性心疾患に限られた。PDE5 阻害剤は周術期における使用報告は少なかった。

神経伝達物質 vasoactive intestinal peptide (VIP) は 70 % アミノ酸相同性を持つ pituitary adenylyl activating polypeptide (PACAP) と共に血管拡張、臓器保護作用を示し、呼吸循環機能に関与しているとされる(5)。原発性肺高血圧患者、実験的肺高血圧モデルに対する VIP 投与による改善(3) また VIP 遺伝子及び PACAP 受容体 PAC1 遺伝子ノックアウトマウス<sup>3</sup> が肺高血圧を呈したこと等から、VIP/PACAP は肺高血圧に保護的に作用すると考えられ、VIP は肺血管拡張薬として次世代の肺高血圧治療薬の一つとして考えられていたが(1, 2, 4)、血圧低下等の副作用、短い半減期等のため投与方法・費用の問題から研究は進展していなかった。

我々は肺高血圧モデルの肺組織において VIP, PACAP の減少とその受容体である VPAC1, VPAC2, PAC1 の代償的な発現亢進を見出したことから、VIP, PACAP に対する肺血管拡張作用が上記受容体を介して亢進していると仮説を立てた。モノクロタリン誘発肺高血圧ラットを用い VPAC1, VPAC2 選択的アゴニストの他 PGI<sub>2</sub>, VIP, PACAP, 静脈内投与による予備実験を行った結果、VPAC2 アゴニストは PGI<sub>2</sub> と同程度に右室圧を低下させ、血圧低下作用も同程度であった。そこで VPAC2 選択的アゴニストは VIP より優れた肺高血圧治療薬としての可能性があると考えられた。

### 2. 研究の目的

VPAC2 アゴニストを含む VIP, PACAP アナログの静注による肺高血圧症周術期管理における有用性を比較検討する。モノクロタリン肺高血圧モデル用い、体・肺動脈圧、体・肺血管抵抗、心拍出量等の循環パラメーターから検証する。VIP、PACAP とその受容体の発現量も検討する。

### 3. 研究の方法

モノクロタリン誘発ラットモデル(MCT 群)は、モノクロタリン 60mg/kg を皮下注射することで作製し、4週間後以下の測定を行った。

(1) 肺組織における VIP, PACA の mRNA 発現定量 precursor タンパク定量。PAC1, VPAC2, PAC1 受容体のタンパク発現の定量。

各タンパクの定量は肺組織をホモジナイズし、western blot で定量した。mRNA 発現量は、肺組織から全 RNA を抽出後、逆転写し cDNA を得て Real-time PCR で各発現を定量した。

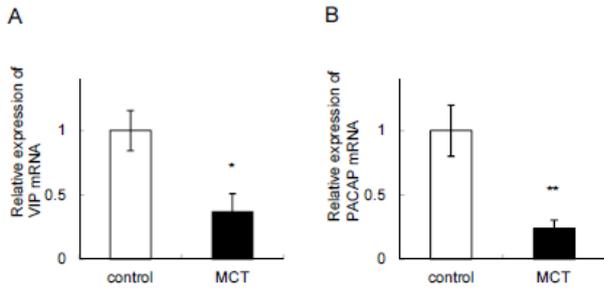
(2) 循環動態測定 (右室/血圧、心拍数、心拍出量、体・肺血管抵抗) 右室・左室重量測定

正常及び各肺高血圧モデルを用い、セボフルランによる全身麻酔下に気管挿管し人工呼吸させた。実体顕微鏡下に大腿動脈にカテーテルを挿入し体血圧、心拍数を測定した。右頸静脈よりカテーテルを挿入し右室圧を測定する。右室に入ったことは圧ラインの波形から判断した。心拍出量は熱希釈式で行い、プローブは左頸動脈から挿入し先端は大動脈弓に留置した。体・肺血管抵抗は血圧、肺血圧を心拍出量で除し算出する。静脈ラインは大腿静脈に確保した。

VPAC2, VPAC1 選択的アゴニスト, PGI<sub>2</sub>, VIP, PACAP 等を静脈ラインよりボラス投与し、上記循環動態を記録した。各薬剤は濃度依存性の反応を評価した。薬剤ボラス投与後、次の投与は各種値が正常値になるまで十分に時間を取った。データ取得、解析は

Power lab(ADInstruments)で行った。

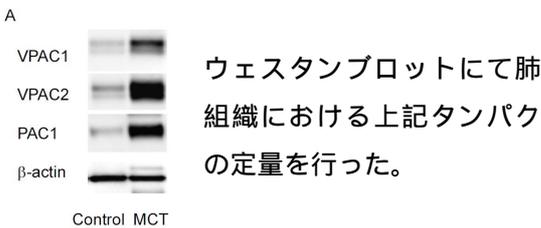
#### 4. 研究成果



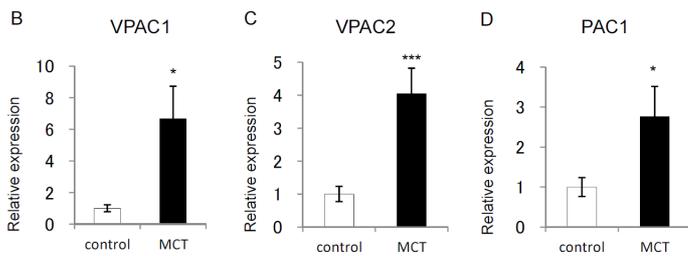
(1) VIP, PACAP mRNA 定量の変化

VIP, PACAP 共にモノクローリン誘発肺高血圧ラット(MCT 群)において control と比較し有意に低下していた。

(2) VPAC1, VPAC2, PAC1 タンパク発現量の変化

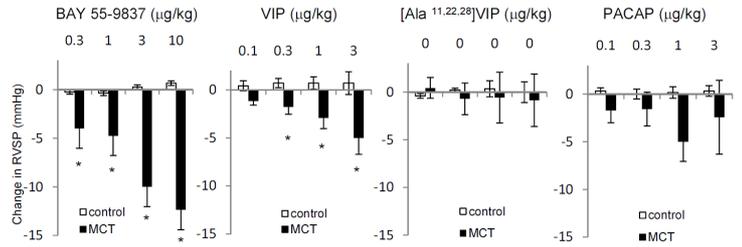


VPAC1, VPAC2, PAC1 発現量はモノクローリン誘発肺高血圧モデル(MCT)において control と比較し有意に低下していた。

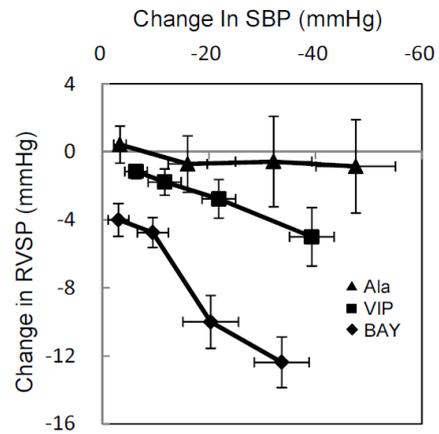


(3)VPAC2, VPAC1 選択的アゴニスト, VIP, PACAP 静注による右室圧、血圧の変化  
MCT 群において VPAC2 選択的アゴニスト BAY55-9837, VIP は用量依存性に右室圧を低下させたが、低下幅は VPAC2 が大きかった。VPAC1 選択的アゴニスト[Ala11.22.28]VIP、PACAP においては有意な変化を認めなかった。

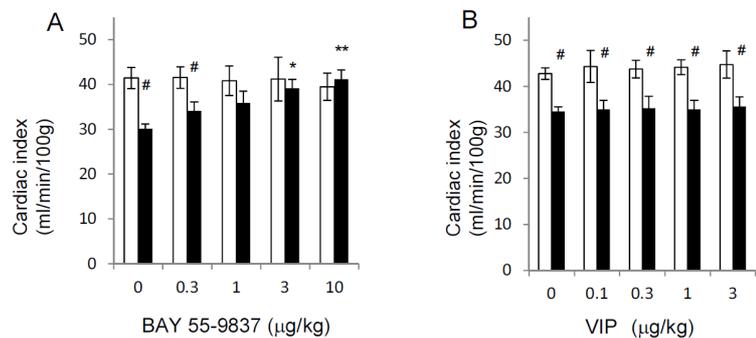
control 群では各アゴニストは右室圧に影響を与えなかった。



体血圧と右心圧の変化をプロットすると BAY55-9837 が体血圧の変化に比べ右室圧低下効果が他のアゴニストより大きいことが示された。



(4)VPAC2 選択的アゴニスト、VIP 静注による心拍量、体血管抵抗、肺血管抵抗の影響



MCT 群において BAY55-9837 は心拍量を用量依存性に増加させ正常値に近づけた一方、VIP は心拍量を変化させなかった。control 群において BAY55-9837, VIP とともに心拍量を変化させなかった。

以上の結果から、MCT 群において BAY55-9837

はVIPに比較し右室圧低下作用が強く、また心拍出量も増加させることが示された。VPAC2受容体の肺高血圧における新たな役割を示し、選択的アゴニストの治療薬としての可能性が示唆された。VIP、PACAPの肺循環における機能や肺高血圧発症における役割が報告されてきたが(3-5)、本研究はこれらに矛盾しない結果が得られた。MCTモデル以外の肺高血圧症における役割の解明や適切な投与方法の検討が今後の課題である。

#### 4. 引用文献

1. Dickson L, and Finlayson K. VPAC and PAC receptors: From ligands to function. *Pharmacol Ther* 121: 294-316, 2009.
2. Habre W, Albu G, Janosi TZ, Fontao F, von Ungern-Sternberg BS, Beghetti M, and Petak F. Prevention of bronchial hyperreactivity in a rat model of precapillary pulmonary hypertension. *Respiratory research* 12: 58, 2011.
3. Petkov V, Mosgoeller W, Ziesche R, Raderer M, Stiebellehner L, Vonbank K, Funk GC, Hamilton G, Novotny C, and Burian B. Vasoactive intestinal peptide as a new drug for treatment of primary pulmonary hypertension. *Journal of Clinical Investigation* 111: 1339-1346, 2003.
4. Said SI, Hamidi SA, Dickman KG, Szema AM, Lyubsky S, Lin RZ, Jiang YP, Chen JJ, Waschek JA, and Kort S. Moderate pulmonary arterial hypertension in male mice lacking the vasoactive intestinal peptide gene. *Circulation* 115: 1260-1268, 2007.
5. Sano H, Miyata A, Horio T, Nishikimi T, Matsuo H, and Kangawa K. The effect of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide on cultured rat

cardiocytes as a cardioprotective factor. *Regulatory peptides* 109: 107-113, 2002.

#### 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 2件)

Mizuno, Y., Koga, M., Kashiwagi, S., Watanabe, I., & Goto, T.. Effect of VPAC2 agonist on improving cardiac output in pulmonary hypertension. *The FASEB Journal*, 27 (1) 2013 1140.19. 査読あり

Koga M1, Mizuno Y, Watanabe I, Kawakami H, Goto T. Role of VPAC2 receptor in monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *J Appl Physiol*.2014 15;117(4):383-91. 査読あり

[学会発表](計 1件)

Mizuno, Y., Koga, M., Kashiwagi, S., Watanabe, I., & Goto, T. (2013). Effect of VPAC2 agonist on improving cardiac output in pulmonary hypertension. *Experimental Biology*. Boston, USA

[図書](計 0件)

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者 川上 裕理 (KAWAKAMI, Hiromasa)  
横浜市立大学・附属市民総合医療センター・助教  
研究者番号: 90407958

(2) 研究分担者 水野 祐介 (MIZUNO, Yusuke)  
横浜市立大学・附属病院・准教授  
研究者番号: 80433192

研究分担者 三浦 倫一 (Miura, Norikazu)  
横浜市立大学・医学部・准教授  
研究者番号: 50448677

研究分担者 渡邊 至 (Watanabe, Itaru)  
横浜市立大学・医学研究科・客員教授

研究者番号：20534142

(3)連携研究者なし