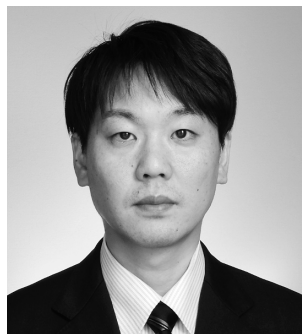


赤木 達

Satoshi Akagi

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 循環器内科学

Department of Cardiovascular Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine,
Dentistry and Pharmaceutical Sciences

プロフィール

昭和50年生まれ

平成12年3月 山口大学医学部医学科卒業

平成12年4月 岡山大学医学部附属病院 循環器内科入局

平成12年5月 岡山大学医学部附属病院 循環器内科 医員 (研修医)

平成12年9月 岡山労災病院 内科 研修医

平成14年9月 岡山医療センター 循環器科

平成18年4月 岡山大学医学部・歯学部附属病院 循環器内科 医員

平成21年3月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科修了

平成25年8月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 循環器内科学 助教
現在に至る

受賞対象論文

Akagi S, Nakamura K, Matsubara H, Kusano KF, Kataoka N, Oto T, Miyaji K, Miura A, Ogawa A, Yoshida M, Ueda-Ishibashi H, Yutani C, Ito H: Prostaglandin I₂ induces apoptosis via upregulation of Fas ligand in pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Int J Cardiol* (2013) 165, 499-505.

研究の背景と経緯

特発性肺動脈性高血圧症 (idiopathic pulmonary arterial hypertension: IPAH) は、①肺動脈の過収縮、②肺動脈内皮細胞と平滑筋細胞の過増殖及びアポトーシス抵抗性で生じる内膜・中膜肥厚 (=血管リモデリング)、③血栓形成により著明な肺動脈圧上昇をきたす予後不良な疾患である。この病態には、血管拡張因子であるプロスタグランジン I₂ (prostaglandin I₂: PGI₂) と NO の産生低下、及び血管収縮因子であるエンドセリンの上昇が関与している。そのためこれら3因子に対する薬剤が開発され、PGI₂ 製剤、エンドセリン受容体拮抗剤、ホスホジエステラーゼ5を阻害しNOの経路の下流にあるcGMPを上昇させて血管拡張させるホスホジエステラーゼ5阻害剤が治療薬として登場した。これらの薬剤はいずれも肺動脈拡張作用を持ち、運動耐用能や血行動態を改善させるが、長期予後を改善するのはPGI₂ 製剤のみである。

PGI₂ 製剤はその半減期の短さのため持続静注投与が必要で、投与量も少量から開始し漸増していく。過去の報告ではPGI₂ 投与量が25~40ng/kg/minで、平均肺動脈圧が12~22%低下している。これらの結果から40ng/kg/minが至適投与量と考えられているが¹⁻³⁾、この投与量で治療しても5年生存率は50%程度に留まっ

ている。我々はその一因としてPGI₂ 投与量が不十分と考え、40ng/kg/min以上の高用量PGI₂を投与してIPAH患者(14例)の治療を行った。その結果平均投与量107ng/kg/minの高用量PGI₂持続静注療法で、平均肺動脈圧が30%低下し全例生存した⁴⁾。このような結果が得られたのは、高用量のPGI₂を使うことによって、肺動脈拡張作用だけでなく肺血管リモデリングを改善したためと我々は考えた。先に述べたように肺血管リモデリングには肺動脈平滑筋細胞のアポトーシス抵抗性が関与している。そこで我々はPGI₂に肺動脈平滑筋細胞のアポトーシス誘導作用があるかを、肺移植を受けたIPAH患者から得られた肺動脈平滑筋細胞や血液サンプルを用いて検討した。

研究成果の内容

肺動脈平滑筋細胞にPGI₂を投与して実験を行うこととしたが、先に述べたようにPGI₂は半減期が短いため、単回投与しただけでは効果が持続しない。そこで肺動脈平滑筋細胞に持続的にPGI₂を投与できる還流システムを構築して、PGI₂を24時間持続投与し実験を行った。

アポトーシスが起ると細胞核の断片化やクロマチン凝集といった変化がみられる。そのような変化が

PGI₂ 投与で起こるのかを電子顕微鏡を用いて観察したところ、IPAH 患者由来肺動脈平滑筋細胞で核の断片化とクロマチンの凝集が観察された。またアポトーシスが起ると DNA が断片化されるが、これを免疫組織学的に証明する方法として TUNEL 染色がある。IPAH 患者由来肺動脈平滑筋細胞において、低濃度の PGI₂ 投与では TUNEL 陽性細胞の有意な増加は見られなかったが、高濃度の PGI₂ 投与では TUNEL 陽性細胞が有意に増加した。一方非肺高血圧患者由来肺動脈平滑筋細胞では、高濃度の PGI₂ を投与しても有意な TUNEL 陽性細胞の増加は見られなかった。さらにアポトーシスが誘導されると細胞内のカスパーゼ活性が上昇する。このカスパーゼ活性が上昇した細胞を染色してみると、IPAH 患者由来肺動脈平滑筋細胞では高濃度 PGI₂ 投与でカスパーゼ活性陽性細胞が有意に増加した。一方非肺高血圧患者由来肺動脈平滑筋細胞では、高濃度の PGI₂ を投与しても有意なカスパーゼ活性陽性細胞の増加は見られなかった。

次にアポトーシスに関与している因子を PCR アレイ法にて調べた。いくつかの因子の上昇がみられたが、我々はアポトーシス誘導因子である Fas リガンドに着目した。定量的 RT-PCR 法やウエスタンブロット法で Fas リガンドを定量したところ、mRNA レベルで 3.98 倍、蛋白質レベルで 1.7 倍、コントロールと比べて有意に上昇していた。また PGI₂ は IP 受容体を介して

cyclic AMP を上昇させることが知られているが、今回の実験においても PGI₂ は濃度依存性に cyclic AMP を上昇させた。一方で IP 受容体拮抗剤存在下に高濃度の PGI₂ を投与すると、cyclic AMP の上昇が抑制された。さらに IP 受容体存在下では、高濃度 PGI₂ によってもたらされた TUNEL 陽性細胞やカスパーゼ陽性細胞、Fas リガンドの上昇が有意に抑制された。

最後に IPAH 患者血清中の Fas リガンド値を測定したところ、PGI₂ 投与量と血清 Fas リガンド値に正の相関がみられた。以上の結果から、高濃度 PGI₂ は IP 受容体と Fas リガンドを介して IPAH 患者由来肺動脈平滑筋細胞のアポトーシスを誘導することが明らかとなった (図)。

研究成果の意義

有効な治療薬がなかった約 20 年前までは IPAH 患者の平均生存期間は約 2.8 年だった。1990 年後半に登場した PGI₂ 持続静注療法により、その 5 年生存率は 50% を超えるまでに改善したが依然として予後不良な疾患に変わらない。PGI₂ 持続静注療法では PGI₂ を少量から投与開始するが、その投与量に明確な基準はない。我々は高用量 PGI₂ 持続静注療法が著しい肺動脈圧低下をもたらすことを報告し、その機序として PGI₂ の IP 受容体と Fas リガンドを介した肺動脈平滑筋細胞

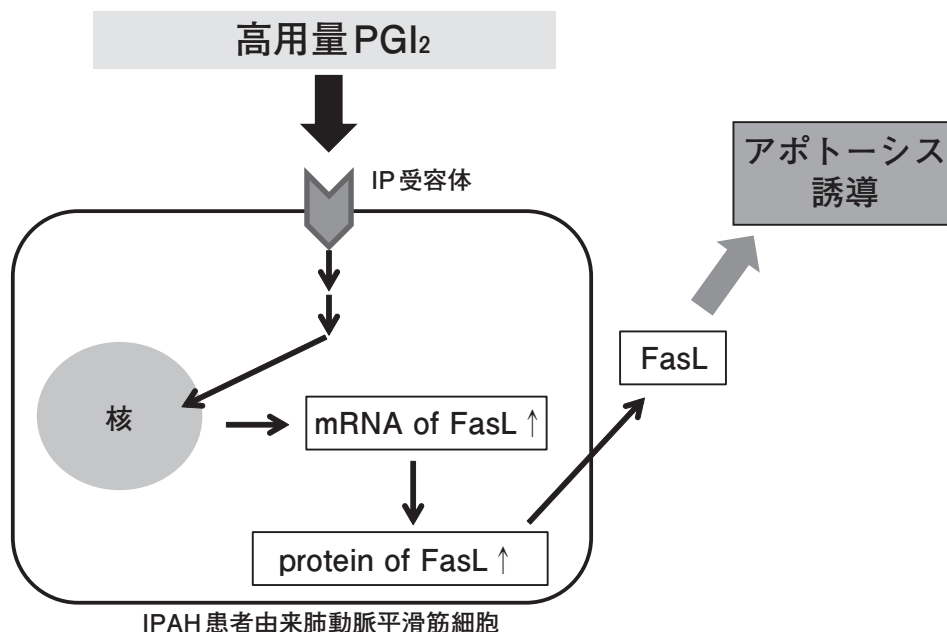


図 高用量 PGI₂ による IPAH 患者由来肺動脈平滑筋細胞のアポトーシス誘導の機序

のアポトーシス誘導作用であることを示した。すなわち PGI₂を高用量用いて治療することの意義とその根拠を初めて示した研究と考えられる。

今後の展開や展望

臨床及び基礎研究の結果より高用量 PGI₂療法は肺血管リモデリング作用を有し、その作用が血行動態や予後の改善をもたらすと考えられた。しかし高用量 PGI₂治療には様々な問題点がある。まず PGI₂は中心静脈カテーテルを用いた持続静注が必要となる。そのためカテーテル感染などのカテーテル関連合併症の危険性が常にある。また患者は1日1回薬液を溶解せねばならず、QOLを低下させる一因となっている。さらに高用量用いることで、肺血管だけでなく全身血管も拡張させてしまい、顔面紅潮や頭痛といった副作用が生じる。そのため高用量の PGI₂を肺動脈特異的に、中心静脈カテーテルを用いずに投与することができればこのような問題を解決できる。今後は高用量 PGI₂の新たな投与方法を考えていく予定である。

文 献

- 1) McLaughlin VV, Shillington A, Rich S: Survival in primary pulmonary hypertension: The impact of epoprostenol therapy. *Circulation* (2002) 106, 1477-1482.
- 2) Sitbon O, Humbert M, Nunes H, Parent F, Garcia G, Herve P, Rainisio M, Simonneau G: Long-term intravenous epoprostenol infusion in primary pulmonary hypertension: Prognostic factors and survival. *J Am Coll Cardiol* (2002) 40, 780-788.
- 3) McLaughlin VV, Genthner DE, Panella MM, Rich S: Reduction in pulmonary vascular resistance with long-term epoprostenol (prostacyclin) therapy in primary pulmonary hypertension. *N Engl J Med* (1998) 338, 273-277.
- 4) Akagi S, Nakamura K, Miyaji K, Ogawa A, Kusano KF, Ito H, Matsubara H: Marked hemodynamic improvements by high-dose epoprostenol therapy in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circ J* (2010) 741, 2200-2205.

平成26年6月受理

〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話: 086-235-7351 FAX: 086-235-7353

E-mail: akagi-s@cc.okayama-u.ac.jp