

	おばた ひろあき
氏 名	小幡 裕明
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第213号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名	Single Injection of a Sustained-release Prostacyclin Analog Improves Pulmonary Hypertension in Rats (ラット肺高血圧モデルに対する徐放性プロスタサイクリンアナログ単回投与の効果)
論文審査委員	主査 教授 林 純 一 副査 教授 相 澤 義 房 副査 教授 樋 口 宗 史

博士論文の要旨

【背景と目的】特発性肺動脈性肺高血圧症は進行性の肺血管抵抗増加から肺動脈圧が上昇し、右心不全を来たして死に至る予後不良な疾患である。強力な血管拡張薬であるプロスタサイクリンの登場によって本症の生命予後は有意に改善したが、生体内での半減期が非常に短く、薬剤持続投与のために植え込み型カテーテルの留置が必要となる。そこで長期作用型薬剤の開発が切望されている。我々は、新たな徐放性プロスタサイクリンアゴニスト (ONO-1301MS) を開発し、肺高血圧モデルに対する効果を検討した。ONO-1301MS はトロンボキサン A₂ (TXA₂) 合成酵素阻害作用をもつ新たなプロスタサイクリンアゴニストを乳酸グリコール酸共重合体 (PLGA) で修飾することによって徐放性製剤としたものである。

【方法と結果】我々は、PLGA の平均分子量や乳酸/グリコール酸比、粒子径などを調節し、in vitro 研究における徐放期間が1~4週の製剤を作ることができた。この中から、徐放期間が3週間であった製剤を用いて動物実験を行なった。正常ラット (雄性 Wistar rat, 8週齢) に ONO-1301MS を1回皮下投与 (100 mg/kg) し、血中薬物濃度と、プロスタサイクリンのセカンドメッセンジャーである cAMP の血漿中濃度を経時的に測定した。その結果、薬物濃度は3週間後まで上昇してお

り、cAMP 濃度もこの変化と平行に少なくとも 2 週以上の上昇を認めた。次に、肺高血圧モデルに対する効果を検討した。動物モデルはラット（雄性 Wistar rat、5 週齢）に対し Monocrotaline (MCT) を皮下注射（60 mg/kg）して作成した。被検動物は無作為に Sham 群、Control 群（MCT + Vehicle 投与）、Treated 群（MCT + ONO-1301MS 投与）の 3 群に分け、MCT 投与 3 週間後に血行動態、病理学的評価を施行した。ONO-1301MS は、MCT 投与直後に 1 度だけ皮下注射（100 mg/kg）を行なった。血行動態の評価において、Control 群では、肺動脈圧の指標として右室収縮期圧、右心肥大の程度を反映する指標として右心重量/体重比が、Sham 群に比して高値となっているのに対し、Treated 群ではこれらの指標が、Control 群に比して有意に低下していた。また肺組織切片を染色し、抹消肺動脈の中膜肥厚を定量評価したところ、Control 群では Sham 群に比して中膜の肥厚を認めたが、Treated 群では Control 群に比して有意に軽減していた。肺高血圧の病的肺血管においては、増殖因子からのシグナルが過剰となっていることが想定されるため、肺組織中のリン酸化 ERK1/2 を Western blotting により定量すると、Control 群では Sham 群に比して ERK1/2 のリン酸化が亢進していたのに対し、Treated 群ではこれが抑制されていた。さらに、ONO-1301MS の TXA₂ 合成酵素阻害作用を評価するため、その尿中代謝産物を MCT 投与 2 週後の各群において測定した。Control 群では Sham 群に比して上昇を認めたが、Treated 群では Control 群より有意に低下していた。

【考察】右室収縮期圧、右心重量/体重比の改善は、それぞれ肺動脈圧の低下、右心肥大の抑制を示す結果である。これらの効果は、抹消肺動脈の中膜肥厚の抑制や、肺組織中の ERK1/2 のリン酸化抑制の所見から、プロスタサイクリンが有する血管拡張作用のみならず、肺動脈平滑筋細胞の増殖抑制効果の関与が示唆される。これまでの報告では、活性化された cAMP/PKA が、MAPK カスケードをネガティブに調整していることが示されている。さらに、TXA₂ はプロスタサイクリンと拮抗的な生理活性をもつ血管収縮因子であり、肺高血圧症の進展に作用すると考えられているため、ONO-1301MS の有する TXA₂ 合成酵素阻害作用も病態改善に寄与している可能性がある。

【結論】 ONO-1301MS は、わずか 1 回の投与で血中濃度を 3 週間上昇させ、肺高血圧症モデルの病態を改善させた。その作用機序は、cAMP 上昇と TXA₂ 合成酵素阻害によるものと考えられ、ERK のリン酸化抑制を介した増殖シグナルの抑制効果も関与していると考えられた。

(論文審査の要旨)

肺高血圧症に対するプロスタサイクリン (PGI₂) 静注療法は、PGI₂ の不安定さゆえに中心静脈カテーテルを用いた持続注入が必要となる。我々はトロンボキサン (TXA₂) 合成酵素阻害作用をもつ新しいプロスタサイクリンアゴニストを開発し、これを乳酸グリコール酸共重合体で修飾することにより 3 週間の徐放化に成功した (ONO-1301MS)。肺高血圧モデルは雄性ラット (5 週齢) にモノクロタリン (MCT) を投与して作製した。MCT 投与後 (60mg/kg) に ONO-1301MS を 1 回皮下投与 (100mg/kg) し、3 週間後に評価を行った。治療群は、非治療群と比較して右室収縮期圧の低下、右室/左室重量比、肺動脈中膜壁厚の減少を認めた。また、ONO-1301MS の 1 回皮下投与により、薬物血中濃度は 3 週間持続し、セカンドメッセンジャーである血中 cAMP 濃度の上昇も 2 週間以上持続していた。さらに、尿中 TXA₂ 代謝産物濃度が有意に低下した。これらより、ONO-1301MS はわずか 1 回の投与で肺高血圧ラットの病態を改善させ、その作用には cAMP 上昇と TXA₂ 合成酵素阻害が関与している可能性が示された。

以上の知見を明らかにした点に学位論文として価値を認める。