

	いからし のぼる
氏 名	五十嵐 登
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第218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	ラットのモノクロタリン誘発による実験的肺高血圧症モデルに対するエリスロポエチン投与の有効性
論文審査委員	主査 教授 相澤義房 副査 教授 林 純一 副査 教授 樋口宗史

博士論文の要旨

緒言

原発性肺高血圧症は肺の血管内皮細胞の増殖、叢状病変 (plexiform lesion)、血管平滑筋細胞の増殖による中膜肥厚を特徴とし、比較的若年者に発症する稀な疾患である。現在の標準的治療であるProstacyclin (PGI₂) 持続静注療法などによっても5年生存率は50%程度と予後不良であり、有効な治療法の開発が望まれている。

近年、エリスロポエチン(EPO)およびEPORの発現が腎/骨髄システムのみならず心血管系、中枢神経などの多彩な組織で見つかっており、組織障害時のアポトーシス抑制による細胞保護作用の重要性が指摘されてきた。EPOはin vitroで血管内皮細胞に対して、endothelial NO synthase (eNOS) 活性誘導作用やBcl-XL誘導による抗アポトーシス作用を示す。またin vivoでは、EPOR欠損マウスにて低酸素誘発性肺高血圧の増悪が観察され、肺高血圧の進展にEPO/EPORシステムが組織保護的に働いていると考えられている。

EPO投与には血管内皮に対するeNOS誘導および抗アポトーシス効果に加え、血管内皮誘導や血管新生による局所循環の改善が期待される。そこで我々はモノクロタリン(MCT)誘発ラット肺高血圧モデルに対してEPO持続静注投与による改善効果を検討した。また、EPO誘導体の1つであるアジアロEPO(AEPO)との効果の比較をおこなった。

方法

正常ラット (N群)、モノクロタリンの皮下注射によって肺高血圧を誘発し、同時にEPOを含まないメEDIUMの持続静脈内投与を行ったラット (M群)、500IU/kg/day のrhEPO持続静脈内投与ラット (E群)、500IU/kg/day のrhAEPO持続静脈内投与ラット (A群) について、21日後の測定で比較した。

血行動態

N群に比しM群では右室重量および右室圧の著明な増加/上昇が認められ、肺高血圧の出現による強い右心負荷の増大が観察された。これはEPO投与群で改善が見られたが、AEPO投与群では改善しなかった。

肺組織

中膜肥厚による壁厚比の著しい増大がM群で認められ、これはEPO投与群で改善が見られたが、AEPO投与群では改善しなかった。

mRNA 定量 (肺組織)

M 群に比し E 群で有意な BCL-X 発現の誘導が観察されたが、A 群では発現誘導が弱かった。BCL-X のアイソフォームのうち BCL-XL が同じ動態を示した。BCL-2 の誘導は見られなかった。SDF-1 および VEGF については、各群間で有意な違いは観察されなかった。PECAM-1 および ET-1 は、N 群に比し M 群で低下していたが、EPO 投与によって低下の抑制が見られ、AEPO 投与による改善は見られなかった。同じく血管内皮に由来する eNOS にはこのような有意差が観察されなかった。

ELISA と血算

血清 EPO 濃度は EPO 投与群で上昇が見られたが、AEPO 投与群では有意な上昇が観察されなかった。AEPO の血中からの消失が速やかであるためと思われる。EPO 投与群では赤血球造血誘導による Ht (%) の上昇と、脾での赤血球造血による脾重量の増加が見られたが、AEPO 投与では造血作用が観察されなかった。

考察

EPO の持続静注により抗アポトーシス分子 BCL-XL が誘導され、血管内皮に由来する PECAM-1 および ET-1 の発現低下が抑制され、細動脈の中膜肥厚が改善し、右室圧および右室重量の増加が抑制された。アジアロ EPO 投与によってはこのような EPO の効果が観察されなかった。

エリスロポエチンの投与は多血症の誘発によって高血圧を来す可能性があるのみならず、血管内皮に対する直接作用としてのエンドセリン産生の上昇や細胞内カルシウムの動員を介して高血圧を誘発すると考えられているが、今回の結果では多血症などに随伴する体循環の高血圧は観察されなかった。

肺高血圧症では血管内皮の障害が発症と病態の進展において重要である。血管内皮前駆細胞 (EPC) を多く含む骨髄を用いた肺高血圧症の細胞治療を目指した前臨床研究では、モノクロタリン誘発ラット肺高血圧の治療モデルに対して EPC 輸注が有効であることが分かり、臨床試験が進行中である。EPO には骨髄中の EPC を末梢に動員する作用があることが知られていることから、本研究では血管内皮に発現している EPO 受容体を介した直接作用の他にも EPO による EPC の動員が肺の微小血管新生を介して肺循環を改善させる効果も寄与していた可能性がある。

結語

モノクロタリン誘発ラット肺高血圧モデルにおいて、エリスロポエチンの投与は主に肺血管内皮の保護を介して肺高血圧の進展を抑制した。血管内皮障害が発症や進展に関与する病態において、エリスロポエチンの投与が治療効果を示す可能性が示唆された。

(論文審査の要旨)

エリスロポエチン (EPO) は赤血球造血因子として発見され、腎性貧血の治療に用いられてきた。EPO受容体は赤血球系造血細胞のみならず心血管系や中枢神経にも発現しており、組織保護作用・血管新生作用などを介した多彩なパラクリン系をもつことが知られるようになった。原発性および二次性の肺高血圧症 (PH) は予後不良の疾患で、肺血管内皮障害が発症と進展に重要とされる。EPOの投与が肺血管内皮の生存を高めることでPHを改善しうると考え、動物モデルを用いた治療実験をおこなった。

ラットにモノクロタリンを投与すると、早期には肺細動脈の血管内皮障害を生じ慢性期には中膜肥厚によるPHが誘発された。これをEPO持続静注で治療したところ、抗アポトーシス分子BCL-XLの誘導がみられ血管内皮由来分子PECAM-1およびエンドセリンの発現量の低下が抑制され、肺細動脈の中膜肥厚の改善、および肺高血圧と右心肥大の改善が観察された。EPOのアシアロ体にはこの作用がなかった。

モノクロタリン誘発ラットPHモデルにおいて、EPOの投与は主に肺血管内皮細胞の保護を介してPHの進展を抑制した。血管内皮障害が発症や進展に関与する病態において、EPOの投与が治療効果を示す可能性が示唆された。

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。