OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	Enhanced Pulmonary Vascular and Alveolar Development via Prenatal Administration of a Slow-Release Synthetic Prostacyclin Agonist in Rat Fetal Lung Hypoplasia
Author(s)	梅田, 聡
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61593
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	梅田　聡
論文題名 Title	Enhanced Pulmonary Vascular and Alveolar Development via Prenatal Administration of a Slow-release Synthetic Prostacyclin Agonist in Rat Fetal Lung Hypoplasia （肺低形成モデルラットに対する合成プロスタサイクリンアゴニスト徐放製剤の胎生期投与は胎児肺血管及び肺胞発育を促進する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

先天性横隔膜ヘルニア（CDH）の主病態は肺低形成とこれに付随する肺高血圧であり、重症例の死亡率は依然として高い。現在本邦ではCDHの75%が胎児診断されることから、新規胎児治療の開発が望まれている。近年、Nitrofen誘発ラットCDHモデルにおいて、肺発育促進及び肺高血圧改善に対するVEGFやSildenafilの有効性が報告されている。

ONO-1301はトロンボキサン合成阻害作用を併せ持つプロスタサイクリン（PGI2）アゴニストで、血管拡張作用以外にVEGF/HGF/SDF-1などの内因性修復因子を介した血管新生作用など様々な生理活性が報告されている。本剤はモノクロタリン誘発肺高血圧ラットモデルにおいて、肺動脈中膜肥厚を低減し肺高血圧改善効果を持つことが報告されている。また本剤をPLGAマイクロスフェアに重合させたONO-1301SRは、単回投与でも有効性の長期間保持が報告されている。PGI2アゴニストは既にCDHの出生後の肺高血圧の治療薬として臨床応用されており、本剤がCDHに対する胎児治療薬として有用であるとの仮説を立て、Nitrofenモデルを用いて検証を行った。

〔方法(Methods)〕

妊娠9.5日目（E9.5）のSprague-Dawley rat（term; 22day）にNitrofen（100mg/body）を経口投与し、モデルを作成した。Control群にはvehicleのみを投与した。同日、ONO-1301SR（30mg/kg）あるいはplaseboを、Nitrofenを投与した妊娠ラットにランダムに皮下投与した。E21.5に胎児を摘出し、 Control/CDH/CDH+ONOの3群間で以下の評価を行った。

①　胎児及び母体のONO-1301血中濃度を測定し、薬剤の胎児移行を確認するとともに、胎児肺におけるプロスタサイクリン受容体（IPR）の発現を免疫組織化学染色で検討した。CDHの発生率を調べ、胎児肺低形成の指標として肺重量体重比（LW/BW(%)）及び肺の総DNA・総タンパク含有量を測定した。

②　HE染色にて平均肺胞隔壁間距離を測定し肺胞腔を定量評価した。Elastica van Gieson染色にてMedial Wall Thicknessを算出し肺動脈中膜肥厚を定量評価した。また肺成熟の指標としてTtf-1、Isolectin B4、αSMA、Ki-67を用いた免疫組織化学染色を行った。

③　摘出肺からRNAを抽出し、qRT-PCRにて肺におけるVEGF/HGF/SDF-1の遺伝子発現を検討した。

〔成績(Results)〕

①　ONO-1301は母体血中濃度の約1/7が胎児に移行し、胎盤通過性が確認された。免疫染色の結果、プロスタサイクリン受容体は胎児肺動脈平滑筋に局在していた。ONO-1301投与によるCDHの発生率に有意差はなかった。CDH+ONO群では肺重量体重比および肺総タンパク量がCDH群に比べて有意に増加していた。肺総DNA量はCDH群よりCDH+ONO群で増加傾向にあったが、有意差を認めなかった。

②　CDH+ONO群ではCDH群に比して平均肺胞隔壁間距離が有意に増加し、肺胞腔の増大を認めた。免疫染色ではTtf-1陽性細胞数の有意な増加を認めた。また、CDH+ONO群ではCDH群より有意に肺動脈中膜の肥厚および肺動脈平滑筋層内のKi-67陽性細胞数が有意に減少し、肺動脈平滑筋細胞の増殖が抑制されていた。さらにIsolectin B4陽性域はCDH群よりCDH+ONO群で有意に増加していた。

③　CDH群と比べ、CDH+ONO群でVEGF及びSDF-1の発現が有意に増加し、本モデルの肺胞及び血管発達への影響が示唆された。

〔総　括(Conclusion)〕

ラット先天性横隔膜ヘルニアモデルに対するONO-1301SRの胎生期投与は、肺低形成および肺動脈中膜肥厚を改善した。本薬剤が先天性横隔膜ヘルニアに対する胎児治療薬として有用である可能性が示唆された。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　梅田　聡

論文審査担当者	（職）	氏名
主　査	大阪大学教授	奥山宏臣
副　査	大阪大学教授	木村正
副　査	大阪大学教授	奥村明之進

論文審査の結果の要旨

先天性横隔膜ヘルニアは肺低形成及び付随する肺高血圧を主病態とする新生児外科疾患である。本症の救命率は80%程度で、依然として重症例の予後は不良であり、新たな胎児治療の開発が望まれている。本研究では、CDHの疾患モデル動物であるNitrofen modelに対して、プロスタサイクリン受容体アゴニスト徐放製剤であるONO-1301SRを母獣に投与することで、胎児における肺低形成の改善効果を検証した。結果として、ONO-1301の胎児への薬剤移行を確認し、胎児肺におけるプロスタサイクリン受容体が主として肺動脈平滑筋に局在することを明らかにした。ONO-1301SRの投与により、肺重量体重比は有意に増加した。また組織学的には、胎児肺の肺胞および肺血管床の有意な発育が認められ、肺低形成の改善効果を認めた。これらはONO-1301SR投与による、胎児肺におけるVEGF等の内因性修復因子の発現増強が影響しているものと考えられた。今後の本症の胎児治療の発展に寄与するものと考えられ、本研究は学位論文に値する。