

Title	Constitutively active form of natriuretic peptide receptor 2 ameliorates experimental pulmonary arterial hypertension
Author(s)	那波, 伸敏
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61600
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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	那波 伸敏
論文題名 Title	Constitutively active form of natriuretic peptide receptor 2 ameliorates experimental pulmonary arterial hypertension (センダイウイルスベクターを用いた恒常活性型ナトリウム利尿ペプチドB受容体 (NPR2) の遺伝子治療は肺高血圧症を改善する)
論文内容の要旨	
〔目 的 (Purpose)〕	
<p>CNPは、骨や心臓、血管内皮細胞等で発現するナトリウム利尿ペプチドである。その受容体であるNatriuretic Peptide Receptor 2 (NPR2) は1回膜貫通型で、細胞内でGuanylyl cyclaseと共役し、GTPを cGMPに転換することで様々な細胞内シグナル伝達に関与している。血管平滑筋細胞においては、cGMP経路は重要な血管拡張シグナルであり、細胞内cGMPの増加は、様々な経路で細胞内カルシウム濃度を低下させ、平滑筋細胞の弛緩を誘導する。現在、NO/cGMP経路は肺動脈性肺高血圧症 (PAH) の治療ターゲットの一つとしてNO、PDE5阻害薬等が臨床応用されているが、このCNP/cGMP経路を介した治療薬はない。以前に我々は高身長と骨変形を呈する一家系において、NPR2の機能獲得型変異体を発見し報告した。本研究ではこのNPR2の機能獲得型変異体をPAHの治療に応用することを目的とする。</p>	
〔方法ならびに成績 (Methods/Results)〕	
<p>高い遺伝子導入効率と安全性からヒトへの遺伝子導入のツールとして期待されているセンダイウイルスベクターを用いてセルラインであるヒト肺動脈平滑筋細胞 (PASMC) と肺高血圧症患者由来の肺動脈平滑筋細胞へコントロール蛍光蛋白、野生型NPR2 (WT)、機能獲得型変異NPR2 (caNPR2) を導入し、細胞内cGMPレベルへの影響、増殖とApoptosisへの影響を検討した。次に、PAH動物モデルとしてVEGF阻害薬を用いてSugen PAH rat modelを作成した。センダイウイルスベクターを用い、同様にコントロール蛍光蛋白、野生型NPR2 (WT)、caNPR2を血管内投与により肺へ遺伝子導入し、治療効果を組織学的、血行動態的に検討した。</p> <p>caNPR2を導入したヒト肺動脈平滑筋細胞においては、細胞内cGMPは著増し (control, 0.193 ± 0.115 pmol/ml; WT, 38.3 ± 29.6 pmol/ml; caNPR2, $2,460 \pm 577$ pmol/ml; $n = 3$; $P < 0.01$)、EdU陽性細胞の比率で検討した増殖能の低下を認めた。一方、Apoptosisの増加は認めなかった。また同様に、肺高血圧症患者由来の肺動脈平滑筋細胞でもcaNPR2を導入した細胞で細胞内cGMPは著増し (control, 3.21 ± 0.378 pmol/ml; WT, 6.80 ± 0.438 pmol/ml; caNPR2, 621 ± 28.1 pmol/ml; $n = 3$; $P < 0.01$)、EdU陽性細胞の比率で検討した増殖能の低下を認めた。一方、Apoptosisの増加は認めなかった。</p> <p>Sugen PAH ratにおける検討では、コントロール蛍光蛋白、野生型 (WT) 投与群と比較して、caNPR2投与群では、右室圧の低下 (control, 61.8 ± 7.4 mmHg; WT, 62.4 ± 6.1 mmHg; caNPR2, 46.4 ± 4.7 mmHg; $n = 8$; $P < 0.01$)、右室圧左室圧比の低下を認めた。また、組織学的検討では肺小動脈中膜肥厚の改善、肺細小動脈の閉塞率減少を認め、肺高血圧血管病変の抑制をin vivoで確認した。</p> <p>組織学的改善のメカニズムを検討するため、細胞増殖をPCNA陽性細胞率で、Apoptosisをcleaved caspase-3陽性細胞の割合で検討した。コントロール蛍光蛋白、野生型 (WT)、caNPR2投与群の間で、Apoptosisに差は認めなかったが、caNPR2投与群では肺小動脈平滑筋細胞でのPCNA陽性率は減少し、増殖抑制が関与していたことが示唆された。</p>	
〔総 括 (Conclusion)〕	
<p>恒常活性型NPR2の遺伝子治療は、肺高血圧モデルラットで治療効果を認め、in vitroでの効果も確認できた。今後臨床応用に向けさらに検討する予定である。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 那波伸敏	
論文審査担当者	(職) 氏 名 主 査 大阪大学教授 大園 東一
	副 査 大阪大学教授 坂田 泰史
	副 査 大阪大学教授 瀧 原 幸子
論文審査の結果の要旨	
<p>本研究は高身長と骨変形を呈する一家系において新規に発見されたナトリウム利尿ペプチド受容体 (Natriuretic Peptide Receptor 2 (NPR2)) の機能獲得型変異が細胞に導入するとcGMPを既存の薬剤を遥かに凌駕して増強する作用があることがわかったため、肺動脈性肺高血圧症の治療に応用することを目的とした非常に独創的な研究である。まず細胞実験としてセンダイウイルスベクターを用いてヒト肺動脈平滑筋細胞へコントロール蛍光蛋白、野生型NPR2 (WT)、機能獲得型変異NPR2 (caNPR2) を導入し、細胞内cGMPレベルへの影響、増殖への影響を検討した。caNPR2を導入したヒト肺動脈平滑筋細胞においては、細胞内cGMPは著増し、増殖能の低下を認めた。次に、PAH ratモデルにおける検討では、コントロール蛍光蛋白、野生型 (WT) 投与群と比較して、caNPR2投与群では、右室圧の低下を認めた。また、組織学的な改善も認め、肺高血圧血管病変の抑制を確認した。本研究は既存の薬剤では治療が困難な重症肺高血圧症例に新たな治療の可能性を示唆する研究であり学位に値するものと認める。</p>	