

平成12年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

若手研究者奨励研究報告書

目 次

課題番号

第1分野

20000	13001	アドレノメデュリン投与による重症心不全治療の臨床評価	永谷 憲歳	……	1
1009A	13002	子宮体癌に対するヒト型モノクローナル抗体の作製	福地 剛	……	5
1008A	13003	新しい変異導入法の開発による神経疾患モデルマウスの樹立	笹岡 俊邦	……	10
1010A	13004	病原細菌のコミュニケーションシステムを標的とした医薬品の開発	阿部 章夫	……	15
1006A	13005	糖部立体配座を固定した人工核酸によるアンチセンス医薬品の開発	小比賀 聡	……	20
1007A					

第2分野

1011A	23001	慢性C型肝炎に対するインターフェロン治療効果に関与する宿主因子の解析と医療への応用	土方美奈子	……	29
1012A	23002	ゲノム情報に基づいた移植免疫機構の解明と免疫抑制療法	梨井 康	……	35
1016A	23003	ヒトヘルペスウイルス8による悪性腫瘍発症機構の解明と医療への応用	片野 晴隆	……	42
1013A	23004	血管内造血機構の解明と臍腸間膜動脈より新規造血幹細胞因子の単離	高倉 伸幸	……	47
1014A	23005	BRS-3安定発現細胞系を用いた新規摂食調節ペプチドの同定と病態生理学的意義の解明	宮里 幹也	……	52
1015A	23006	ATP受容体を介した痛み情報伝達機序の解明と医療への応用	小泉 修一	……	57
1018A	23007	トリプトファンによる細胞性免疫の制御	五條 理志	……	61
1019A	23008	気管支喘息における気道リモデリングの制御についての検討	中尾 篤人	……	66
1017A	23009	顔面神経再生に際して発現制御を受ける遺伝子データベースの構築	赤澤 智宏	……	69

第3分野

1020A	33001	循環器病治療薬開発に不可欠な小動物における循環動態テレメトリシステムの開発	佐藤 隆幸	……	73
1022A	33002	有機アニオントランスポーターを介した小腸および腎臓における排出・分泌機構	崔 吉道	……	77
1021A	33003	組換えヒトP450酵素の代謝反応を利用した医薬品等の評価方法の開発	山崎 浩史	……	81

第4分野

1025A	43001	腹膜透析の重篤な合併症である硬化性被嚢性腹膜炎 (Sclerosing Encapsulating Peritonitis) の診断と治療に関する研究	平原 一郎	……	89
1023A	43002	多発性硬化症における病原性T細胞特異的抑制方法の検討	三宅 幸子	……	98
1024A	43003	熱帯病に対する新たな治療薬の開発に関する研究	小出 達夫	……	103

20000	第5分野		
1026A	53001	カルボシラン dendリマーを基本骨格としたペロ毒素中和剤の開発	西川喜代孝 …… 109
1027A	53002	新規抗酸化酵素ペルオキシレドキシンを標的とする抗マラリア薬の開発に関する研究	河津信一郎 …… 113
1028A	53003	Non-typable Haemophilus influenzae 由来リポオリゴ糖抗原に対するペプチドミミックのワクチン応用についての研究	橋本 雅仁 …… 119
1029A	53004	RNAヘリカーゼを標的とする抗ウイルス剤の開発	清水 博之 …… 124
1030A	53005	薬用植物の分子エンジニアリングによる抗酸化物質生産の改良	山崎 真巳 …… 132
	第6分野		
1031A	63001	分子間相互作用制御による高度安定型タンパク質製剤の設計	伊豆津健一 …… 137
1032A	63002	生分解性を有する新規な化学合成ハイドロゲルの開発と組織再建スキャホールドへの応用	山岡 哲二 …… 140
1033A	第7分野		
	73001	ヒト破骨細胞と骨芽細胞培養系を用いた薬物の有効性と安全性に関する検討	和田 誠基 …… 151

アドレノメデュリン投与による重症心不全治療の臨床評価

所 属 国立循環器病センター 心臓内科
研究者 永谷 憲歳

要 旨

経静脈的アドレノメデュリン投与は心筋酸素消費量を増加させずに心拍出量、心筋収縮性、冠血流量を増加させ、また強力な肺血管拡張作用を示した。アドレノメデュリンは左心不全、肺高血圧に伴う右心不全の新たな治療薬となりうることを示唆された。

1. 研究目的

アドレノメデュリンは 1993 年、褐色細胞腫より発見され、心臓、血管、腎臓、肺など広く循環器系の臓器に発現し、体血管及び肺血管拡張作用、利尿作用、心収縮作用、アルドステロン分泌抑制作用を有する。我々は左心不全や肺高血圧症を伴う右心不全において血中および心臓局所におけるアドレノメデュリンの産生が病態に応じて増加することを明らかにし、アドレノメデュリンがこれらの病態に深く関与し、代償的に働いている可能性を報告してきた。今回、アドレノメデュリン投与による新しい心不全治療の有効性を評価するために、研究1では経静脈的アドレノメデュリン投与が左心機能不全患者の血行動態、心筋収縮性、冠血流、心筋酸素消費量へ及ぼす効果を検討した。また同時に、現在臨床応用されている心不全治療薬である心房性ナトリウム利尿ペプチド (HANP) との作用の差異を検討した。また、種々の動物実験からアドレノメデュリンは強力な肺血管拡張作用を有することが知られているため、研究2では右心機能不全をきたした肺動脈性肺高血圧患者を対象にアドレノメデュリンを投与して肺血管拡張作用、肺高血圧軽減効果、右心不全治療効果を検討した。

2. 研究方法

研究1では心筋梗塞後患者14例(全例男子、平均年齢 59 ± 7 歳)を対象とした。被験者に対しては口頭及び文書による説明を十分行い、文書による同意を得た。なお本研究は、国立循環器病センター倫理委員会(平成10年6月15日、受付番号10-3)にて承諾されている。心筋梗塞発症1ヶ月後の心臓カテーテル施行時に、血行動態を測定するためにS-Gカテーテルを留置した。また左室容量および左室内圧測定のために、コンダクタンスカテーテル(Sigma V, CardioDynamics)、チップマイクロマンメーター(SPC-320, Millar Instruments)を左室内に留置し、左室圧容積曲線を求めた。さらに冠血流量測定のためにウエブスターカテーテルを冠静脈洞へ留置した。冠血流量、冠循環動静脈酸素含有較差から心筋酸素消費量を算出した。各段階の終わりでバルーンカテーテルにより下大静脈を一時的に閉塞して心筋収縮性の指標である E_{max} を求めた。また左室拡張能の指標として τ を求めた。安静30分後に無作為にアドレノメデュリン($n=7$)または心房性ナトリウム利尿ペプチド(HANP)($n=7$)を経静脈的に $0.05 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ で18分間投与した。さらに投与中止後18分間の経過観察を行った。

研究2では、肺動脈性肺高血圧症患者10人を対象に、アドレノメデュリン(10^{-9}M 、 10^{-8}M)を経カテーテル的に肺動脈区域枝に選択的に投与した。Doppler flow wireから局所肺動脈流速を、選択的肺動脈造影から肺動脈血管径を求めた。さらにアドレノメデュリンの肺血管拡張作用を既存の内皮依存性肺血管拡張薬であるアセチルコリン(ACh、 10^{-6}M 、 10^{-5}M 、 10^{-4}M)、内皮非依存性肺血管拡張薬アデノシン三リン酸(ATP、 10^{-6}M 、 10^{-5}M 、 10^{-4}M)と比較した。また右心不全を呈する重症肺高血圧症14例(肺動脈平均圧: 62mmHg)を対象に、アドレノメデュリン($0.05 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$)またはプラセボを無作為に経静脈的に30分間投与した。右心カテーテル、動脈ライン留置により血行動態(心拍数、血圧、肺動脈圧、心拍出量、右房圧)の変化を観察した。また繰り返し採血を行い神経体液性因子の変化を観察した。

3. 研究成果

研究1：明らかな副作用（不整脈、著明な低血圧ら）は出現せず、全例がプロトコールを完了した。アドレノメデュリンの経静脈的投与は左室収縮期圧を17 mmHg 有意に低下させ、HANP は13 mmHg 低下させた (Fig. 1)。アドレノメデュリンは心係数を31%増加させたが(3.9 ± 0.2 から 5.1 ± 0.3 L/min/m², $p < 0.05$)、HANP による心係数の増加は16%であった(3.8 ± 0.3 から 4.4 ± 0.4 L/min/m², $p < 0.05$, Fig. 1)。アドレノメデュリン投与により肺動脈楔入圧は低下傾向を示したが有意な変化は得られなかった (9 ± 1 から 8 ± 1 mmHg, $p = \text{NS}$)。一方、HANP は肺動脈楔入圧を有意に低下させた (9 ± 1 から 6 ± 2 mmHg, $p < 0.05$)。アドレノメデュリンはEmaxを有意に増加させた (2.5 ± 0.3 から 3.7 ± 0.3 mmHg/ml, $p < 0.05$)、Tauを有意に短縮させた (52 ± 5 から 48 ± 4 mmHg/ml, $p < 0.05$)。一方、HANP 投与はEmax、Tauに影響を与えなかった。冠血流量はアドレノメデュリン投与により有意な増加を示したが (73 ± 10 から 86 ± 10 mmHg/ml, $p < 0.05$, Fig. 2)、HANP は冠血流量に影響を与えなかった。アドレノメデュリンは心筋収縮性を増加させたにもかかわらず心筋酸素消費量を増加させなかった (46 ± 7 から 47 ± 7 ml/min, $p = \text{NS}$, Fig. 2)。一方、HANP は心筋酸素消費量を低下させた。アドレノメデュリンは血漿 cAMP 濃度を有意に増加させ、一方、HANP は cGMP 濃度を有意に増加させた。

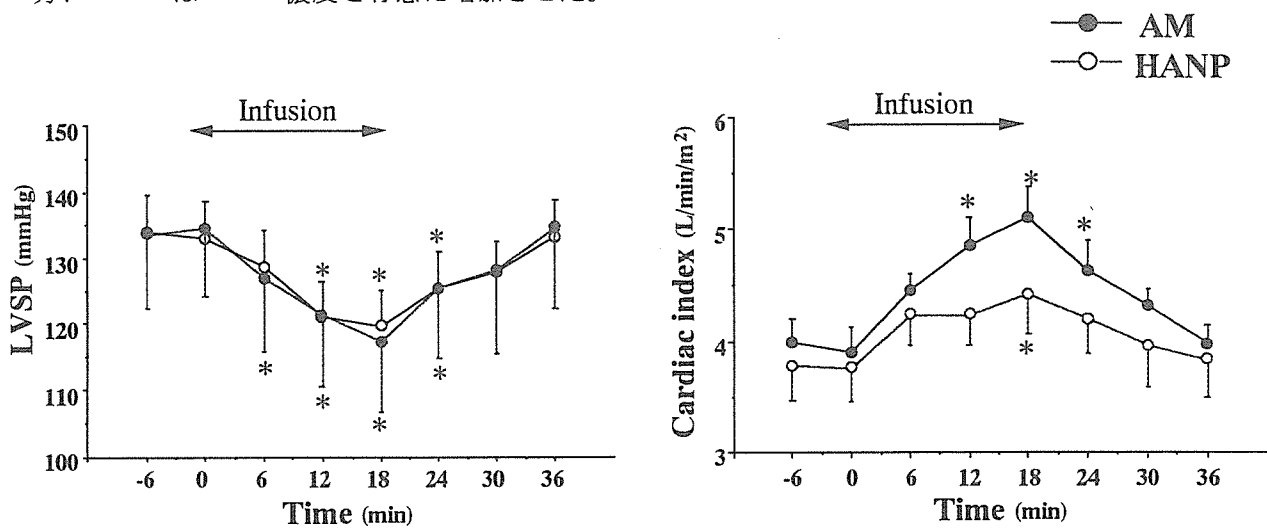


Fig. 1 Hemodynamic responses to adrenomedullin (AM) or human atrial natriuretic peptide (HANP) in patients after myocardial infarction. LVSP = left ventricular systolic pressure. Data are mean \pm SEM. * $p < 0.05$ vs time 0.

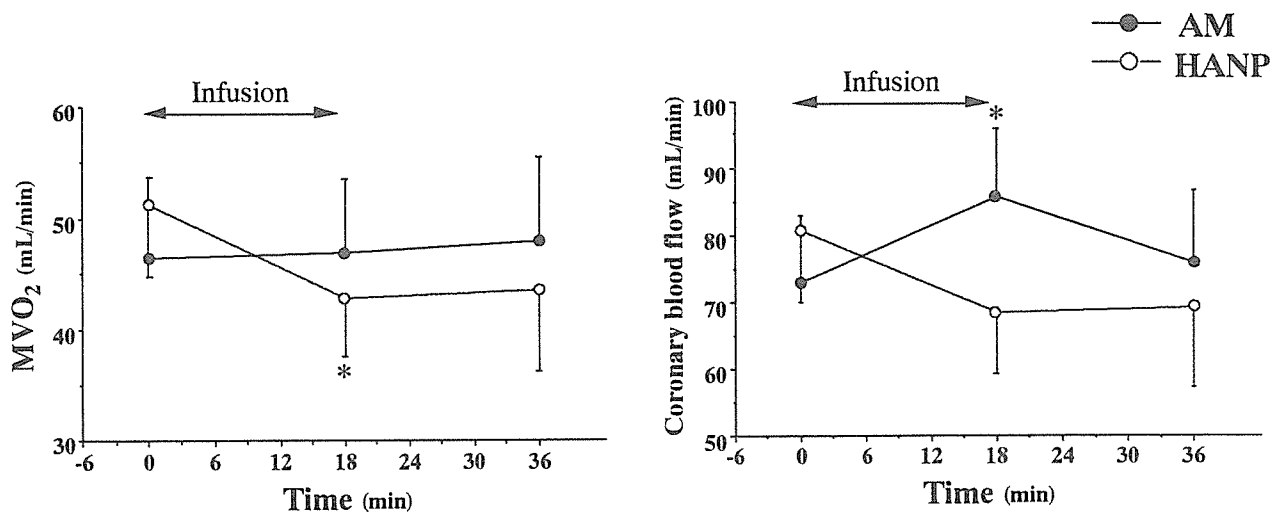


Fig. 2 Changes in myocardial oxygen consumption (MVO₂) and coronary blood flow by adrenomedullin (AM) or human atrial natriuretic peptide (HANP) in patients after myocardial infarction. Data are mean \pm SEM. * $p < 0.05$ vs time 0.

研究2：アドレノメデュリン投与中に1例の患者が一過性の頭痛、動悸を訴えたが、その他明らかな副作用（不整脈、著明な低血圧）は出現せず、全例がプロトコールを完了した。Doppler flow wireより求めた局所肺動脈流速は、アドレノメデュリン、ACh、ATPともに容量依存性に増加した（Fig. 3）。肺血管径に優位な変化は認められなかった。アドレノメデュリン 10-8Mにより肺動脈流速は41%増加した。これはACh10-4M(+39%)、ATP10-5M(+36%)に匹敵した。またAChに反応しない内皮依存性血管拡張が障害された症例においてもアドレノメデュリンは肺動脈流速を有意に増加させた。以上から、アドレノメデュリンはACh、ATPに比べ強力な肺血管拡張作用を有し、その血管拡張には、一部内皮非依存性の機序を介することが示唆された。また経静脈的に30分間アドレノメデュリンを投与した場合、肺動脈圧に有意な変化は認められなかったが（ 62 ± 4 から 59 ± 4 mmHg, $p = \text{NS}$ ）、心係数は著明に増大し（ 1.8 ± 0.2 から 2.6 ± 0.3 L/min/m², $p < 0.05$ ）、肺血管抵抗は有意な低下を示した（ 19.7 ± 1.4 から 13.4 ± 1.3 units, $p < 0.05$ ）。また平均動脈圧の有意な低下（ 81 ± 3 から 72 ± 4 mmHg, $p < 0.05$ ）を示し、心拍数は有意に増加した（ 73 ± 4 から 79 ± 4 bpm, $p < 0.05$ ）。アドレノメデュリンは血漿レニン濃度を変化させずに血漿アルドステロン濃度を有意に低下させた。また血漿ANP、BNP濃度は低下傾向を示した。また血漿cAMP濃度を有意に増加させたが、cGMP濃度に影響を与えなかった。なおプラセボ投与による血行動態、神経体液性因子の経時的変化は認められなかった。

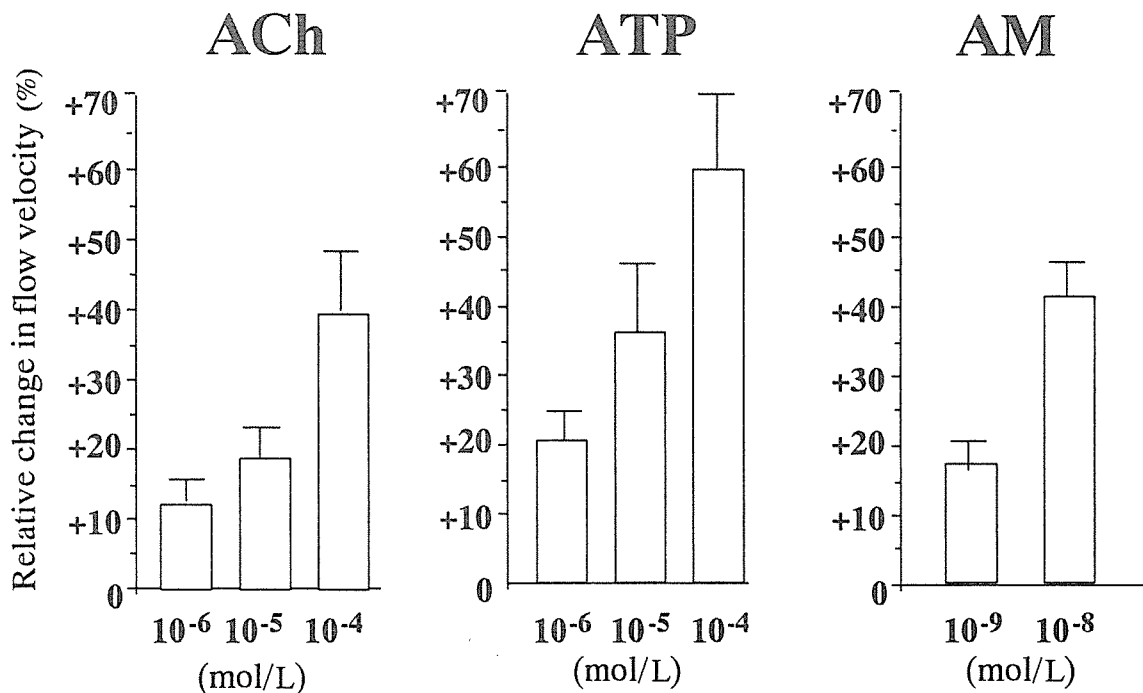


Fig. 3 Pulmonary vasodilator responses to acetylcholine (ACh), adenosine triphosphate (ATP), or adrenomedullin (AM) in patients with pulmonary hypertension. There was statistical significance in each agent ($p < 0.05$ by multiple regression analysis). Data are mean \pm SEM.

4. 考察

今回の研究により、経静脈的アドレノメデュリン投与は動物実験と同様にヒト心不全患者においても強力な末梢血管、肺血管拡張作用を有していることが明らかとなった。既に臨床応用されているHANPと比較した場合、アドレノメデュリンは心後負荷の軽減、心拍出量増大作用に優れていた。またHANPと異なり、アドレノメデュリンは心筋収縮性の指標であるEmaxを上昇させ、また心筋弛緩の指標であるTauを短縮させたことから、心筋に直接働いて収縮能、拡張能を改善させる可能性がある。従ってアドレノメデュリンによる心拍出量増大は血管拡張による心後負荷の軽減、心拍数の

増加、直接の強心作用が関与していると考えられた。一方、HANP は強力な利尿作用、動脈のみでなく静脈血管の拡張作用により、心前負荷を軽減すると報告されている。また以前の我々の研究から、経静脈的投与においては、利尿、ナトリウム利尿効果はアドレノメデュリンに比べ HANP の方が優れていることが証明された。実際、肺動脈楔入圧の低下はアドレノメデュリンより HANP で強かった。またアドレノメデュリンは血漿 cAMP 濃度を有意に増加させ、一方、HANP は cGMP 濃度を有意に増加させた。以上のことから経静脈的に投与した場合、アドレノメデュリンは HANP とは異なったセカンドメッセンジャーを介して、主に心後負荷の軽減、心拍出量増大に働き、主に心前負荷軽減に働く HANP とは異なった作用機序を有することが示された。また本研究では、心筋エネルギー消費量を求めるために冠血流量、冠循環動静脈酸素含有較差から心筋酸素消費量を算出した。一般に強心薬は心筋への直接的作用により心筋酸素消費量を増加させる可能性がある。しかしアドレノメデュリンは心筋酸素消費量を増加させずに心筋収縮性、心拍出量を増大させた。アドレノメデュリンによる心後負荷の低下が心筋エネルギー消費の軽減に関与した可能性がある。また経静脈的にアドレノメデュリンを投与した場合にも冠血流量が増加したことから、アドレノメデュリンには強力な冠血管拡張作用があることが示唆された。

また研究 2 ではアドレノメデュリン投与による肺高血圧治療の可能性を示した。今回対象とした原発性肺高血圧症らの肺動脈性肺高血圧症は、右心不全をきたし数年の経過で致死的となる予後不良の疾患群である。過去数十年の間に肺高血圧治療として各種血管拡張剤が検討されてきたが、プロスタサイクリン（エポプロステノール）持続静注療法以外の有効性は低く、最終的に心肺移植や肺移植を必要とする症例が存在する。今回の研究では、肺動脈に選択的にアドレノメデュリンを投与した場合、既存の血管拡張剤と比較して強力な肺血管拡張作用を示した。動物実験からは、アドレノメデュリンの肺血管作用は内皮依存性の機序によると考えられているが、実際に肺血管内皮機能低下患者においてもアドレノメデュリンの血管拡張作用が認められた。経静脈的アドレノメデュリン投与は、心係数を著明に増加させ、肺血管抵抗を有意に低下させた。アドレノメデュリンは血漿 cAMP 濃度を有意に増加させたことから、これらの血行動態の変化は cAMP を介した強力な肺血管拡張作用、強心作用が関与している可能性がある。またアドレノメデュリンは血漿レニン濃度を変化させずに血漿アルドステロン濃度を有意に低下させた。これらの結果から、アドレノメデュリン投与は血行動態のみでなく体液性因子の是正を介して肺高血圧症に有効である可能性がある。アドレノメデュリン投与は、現在のところ有効な治療法が存在しない致死性肺高血圧症の新たな治療戦略になる可能性がある。今回の研究 1、2 を通じてアドレノメデュリンを投与した患者は 24 人にのぼったが、1 人の肺高血圧症患者が頭痛、動悸を訴えたのみで、その他明らかな副作用は認められなかった。アドレノメデュリンの投与は不十分な内因性ペプチドの補充という観点からも副作用が少なく有益である可能性がある。

5. まとめ

ナトリウム利尿ペプチドやエンドセリンなどの内因性ペプチドの発見とその臨床応用は、多くの循環器疾患患者の救命につながってきた。アドレノメデュリンも発見後 7 年がたち、循環器系の生理活性について多方面から研究が進められ、循環器疾患、特に心不全の病態に重要な役割を果たしていることがわかってきた。今回の我々の研究から、経静脈的アドレノメデュリン投与は心筋酸素消費量を増加させずに心拍出量、心筋収縮性、冠血流量を増加させること、また強力な肺血管拡張作用を有することが示された。これらの結果からアドレノメデュリンは左心不全、肺高血圧に伴う右心不全の新たな治療薬となりうることが示唆された。今後、循環器疾患に対する治療薬としての応用が期待される。

6. 研究発表

Noritoshi Nagaya, Yoichi Goto, Sunao Kojima, Hitoshi Sumida, Toshio Nishikimi, Kunio Miyatake: Effects of Adrenomedullin on Myocardial Function and Energy Metabolism in Patients after Myocardial Infarction. Circulation Vol.102, II-533, Suppl. Oct 31, 2000

平成12年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
若手研究者奨励研究報告書

平成13年11月30日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号

共同ビル（小伝馬町駅前）4F

電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社