

## 総説

肺血管リモデリングの発症機序に迫る

肺動脈平滑筋における  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルの異常山村 彩<sup>1)</sup> 山村 寿男<sup>2)</sup><sup>1)</sup>金城学院大学薬学部生物系<sup>2)</sup>名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学分野

**要約**：肺動脈性肺高血圧症（pulmonary arterial hypertension：PAH）とは、肺血管の攣縮やリモデリングによって、慢性的に肺動脈圧が上昇した病態である。発症後の予後が極めて不良であるため、特定疾患治療研究事業対象疾患（難病）に指定されている。最近、PAHの発症および病態形成に関与する新規  $\text{Ca}^{2+}$  シグナル経路を同定し、次のような成績を得た。①特発性肺動脈性肺高血圧症（idiopathic pulmonary arterial hypertension：IPAH）患者の肺組織および肺動脈平滑筋に  $\text{Ca}^{2+}$  感受性受容体が高発現し、その機能亢進が PAH の病態形成に関与している。②  $\text{Ca}^{2+}$  感受性受容体の選択的阻害薬が、肺高血圧症モデル動物の病態を改善したことから、 $\text{Ca}^{2+}$  感受性受容体が新規 PAH 治療薬の創薬標的として有望である。③ジヒドロピリジン系  $\text{Ca}^{2+}$  ブロッカーは  $\text{Ca}^{2+}$  感受性受容体を活性化し、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を増加させるため、PAH の治療に有効ではない。本稿では、それらの研究成果について概説する。

東邦医学会誌 62(3)：200-202, 2015

KEYWORDS：pulmonary hypertension, calcium-sensing receptor, calcium channel blocker

## 肺高血圧症

肺高血圧症とは、さまざまな要因により慢性的に肺動脈圧が上昇する病態の総称であり、肺高血圧症治療ガイドラインでは、安静時の肺動脈平均圧が 25 mmHg 以上の場合と定義されている<sup>1)</sup>。肺高血圧症の第 1 群に分類される肺動脈性肺高血圧症（pulmonary arterial hypertension：PAH）は、肺血管での病態形成に起因する疾患群である。PAH では、肺血管の攣縮やリモデリングによる血管壁の肥厚によって、血管内腔の狭小化が認められる。これにより肺血管抵抗は上昇し、持続的に肺動脈圧が上昇するため、肺血管の異常な狭窄が引き起こされる。病態が進行すると、血管壁の肥厚に伴って動脈壁全体が硬化し、肺血流量が低下する。最終的には、右心室に負荷がかかり、右心不全に陥る。そのため、PAH は、難治性かつ致死性の高い血管疾患といえる。

わが国における PAH の発症頻度は、年間 100 万人に 1~2 名程度である。2013 年度の罹患者数は 2587 名であり、

稀少疾患に分類される。発症後に治療介入を行わない場合の平均生存期間は 2.8 年であり、予後は極めて不良である。本疾患は、1998 年より厚生労働省が定める特定疾患治療研究事業対象疾患（難病）に指定されている。

肺動脈性肺高血圧症（PAH）と  $\text{Ca}^{2+}$  シグナル

血管平滑筋における細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の変動は、収縮や細胞の増殖・分化、タンパク質の発現調節などの生理機能を発揮する上で、極めて重要な役割を担っている。そのため、細胞膜上の  $\text{Ca}^{2+}$  透過性タンパク質や  $\text{Ca}^{2+}$  感受性タンパク質、およびそれらの機能を制御する因子は、生体内  $\text{Ca}^{2+}$  ホメオスタシスを維持する重要な分子として認識されている。PAH の主な原因である肺血管の攣縮やリモデリングは、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の増加によって惹起される。これまでに PAH の発症や病態形成に関与する複数の因子が同定されているが、それらが複雑に関連しているため、いまだに正確な発症機構は解明されていない<sup>2)</sup>。

1) 〒463-8521 名古屋市守山区大森 2-1723

2) 〒467-8603 名古屋市瑞穂区田辺通 3-1

受付：2015 年 7 月 31 日

東邦医学会雑誌 第 62 巻第 3 号, 2015 年 9 月 1 日

ISSN 0040-8670, CODEN: TOIZAG

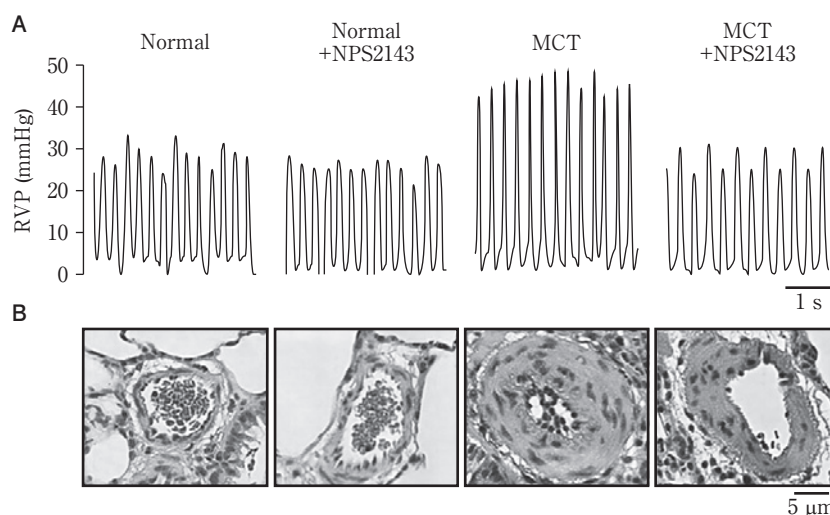


Fig. 1 Blockade of  $\text{Ca}^{2+}$ -sensing receptor attenuates pulmonary hypertension development<sup>3)</sup>.

(A) Representative recordings of right ventricular pressure (RVP) in normal and monocrotaline-induced pulmonary hypertensive (MCT) rats treated with vehicle (as a control) or NPS2143 (a specific antagonist of  $\text{Ca}^{2+}$ -sensing receptor).

(B) Representative micrographs of small pulmonary arteries in normal and monocrotaline-induced pulmonary hypertensive (MCT) rats treated with vehicle or NPS2143 (hematoxylin and eosin staining) (modified from ref. 3).

最近、われわれは、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  動態に関連する細胞膜上の受容体やイオンチャネル、トランスポーターなどの機能性膜タンパク質のうち、PAHの発症および病態形成を担う分子として、 $\text{Ca}^{2+}$ 感受性受容体を同定した。 $\text{Ca}^{2+}$ 感受性受容体はGタンパク質共役型受容体の一種であり、細胞外の $\text{Ca}^{2+}$ 濃度を感知する細胞膜タンパク質として知られている。

### 特発性肺動脈性肺高血圧症 (IPAH) と $\text{Ca}^{2+}$ 感受性受容体<sup>3,4)</sup>

まず、特発性肺動脈性肺高血圧症 (idiopathic pulmonary arterial hypertension: IPAH) 患者、慢性血栓塞栓性肺高血圧症 (chronic thromboembolic pulmonary hypertension: CTEPH) 患者および対象群 (Normal) 由来の肺動脈平滑筋細胞 (pulmonary arterial smooth muscle cells: PASMCs) を作製し、それらの細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  動態を解析した。IPAH-PASMCsにおいて、細胞外液の $\text{Ca}^{2+}$ 濃度を0 mMから2.2 mMに置換したとき、細胞外 $\text{Ca}^{2+}$ 誘発性の細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度上昇が観察された。その応答は細胞外の $\text{Ca}^{2+}$ 濃度に依存し、その $\text{EC}_{50}$ 値は1.22 mMだった。一方、Normal-PASMCsおよびCTEPH-PASMCsでは、そのような $\text{Ca}^{2+}$ 応答は認められなかった。薬理的解析により、細胞外 $\text{Ca}^{2+}$ 誘発性の細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度上昇は $\text{Ca}^{2+}$ 感受性受容体の活性化によって起こることが明らかとなった。また、IPAH患者の肺組織および肺動脈平滑筋において、 $\text{Ca}^{2+}$ 感

受性受容体のタンパク質発現が顕著に増加していた。次に、IPAH-PASMCsの細胞増殖速度を測定したところ、Normal-PASMCsと比較して有意に速かった。 $\text{Ca}^{2+}$ 感受性受容体をsmall interfering RNA (siRNA)法によりノックダウンしたIPAH-PASMCsでは、細胞外 $\text{Ca}^{2+}$ 誘発性の細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度上昇および細胞増殖速度は有意に抑制された。以上より、 $\text{Ca}^{2+}$ 感受性受容体の発現増加および機能増強が、IPAH-PASMCsにおける $\text{Ca}^{2+}$ シグナルの増強とそれに伴う細胞増殖の亢進に密接に関与していることが裏付けられた。

肺高血圧症のモデル動物として汎用されているモノクローリン誘発性肺高血圧症ラットから摘出した肺動脈平滑筋において、 $\text{Ca}^{2+}$ 感受性受容体の発現および機能の亢進が認められた。肺高血圧症モデルラットで認められる右心室収縮期圧の上昇および中膜肥厚は、 $\text{Ca}^{2+}$ 感受性受容体の選択的阻害薬であるNPS2143によって改善された (Fig. 1)。以上より、 $\text{Ca}^{2+}$ 感受性受容体の選択的阻害薬がPAHの新規治療薬として有望であることが明らかになった。

### $\text{Ca}^{2+}$ ブロッカーによる肺高血圧症の増悪効果

PAHは肺動脈平滑筋の攣縮が原因であるにもかかわらず、血管拡張剤である電位依存性 $\text{Ca}^{2+}$ チャンネル遮断薬 ( $\text{Ca}^{2+}$ ブロッカー) が著効する症例 (レスポnder) は、全体の10%程度である。つまり、PAH患者のほとんどが

Ca<sup>2+</sup>ブロッカーに抵抗性を示す陰性症例（ノンレスポonder）である。さらに、症例によっては、Ca<sup>2+</sup>ブロッカーによって病態が悪化することも知られている。そこで、IPAH-PASMCsで発現増加したCa<sup>2+</sup>感受性受容体とCa<sup>2+</sup>ブロッカーとの相互作用について解析し、ノンレスポonderとなる原因の究明を目指した。

ジヒドロピリジン系Ca<sup>2+</sup>ブロッカーであるニフェジピンの投与によって、IPAH-PASMCsの細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度は濃度依存的に増大し、そのEC<sub>50</sub>値は0.21 μMだった。IPAH-PASMCsにおけるニフェジピン誘発性の細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇は、Ca<sup>2+</sup>感受性受容体のsiRNAノックダウンにより減弱した。一方、Normal-PASMCsおよびCTEPH-PASMCsの細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度に対して、ニフェジピンは影響を与えなかった。また、ジヒドロピリジン系Ca<sup>2+</sup>ブロッカーであるニカルジピンや、ジヒドロピリジン骨格を有し電位依存性Ca<sup>2+</sup>チャネルの活性化薬として知られるBay K 8644もニフェジピンと同様のCa<sup>2+</sup>応答を示した。一方、非ジヒドロピリジン系Ca<sup>2+</sup>ブロッカーであるジルチアゼム（ベンゾチアゼピン系）やベラパミル（フェニルアルキルアミン系）は、IPAH-PASMCsの細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度に影響を与えなかった。モノクロタリン誘発性肺高血圧症ラットにニフェジピンを投与しても肺高血圧症の病態は改善されず、その病態が増悪する症例も認められた。以上の知見は、ジヒドロピリジン系Ca<sup>2+</sup>ブロッカーがPAHで発現亢進したCa<sup>2+</sup>感受性受容体を活性化し、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を上昇させるために、この系統の薬剤がPAHに有効でないことを科学的に裏付ける結果であると考えられる。

### 今後の展望

PAHの薬物療法において、1980年代までは主にCa<sup>2+</sup>拮抗剤（Ca<sup>2+</sup>ブロッカー）、利尿剤、抗凝固剤が用いられていた。近年、肺血管に選択性の高い血管拡張剤であるエンドセリン受容体拮抗剤（endothelin receptor antagonist：ERA；ボセンタン、アンプリセンタン、マシテンタン）、ホスホジエステラーゼ5阻害剤（phosphodiesterase type-5 inhibitor：PDE5-I；シルデナフィル、タダラフィル）、プロスタサイクリン（prostaglandin I<sub>2</sub>：PGL<sub>2</sub>）製剤（エボ

プロステノロール、ベラプロスト、トレプロスチニル）が登場し、PAH患者の予後は飛躍的に改善した。

肺高血圧症に対する薬物療法は、新規治療薬の導入によりこの10年間でめざましく発展したが、残念ながら根治治療には至っていない。われわれは、PAHの病態形成に関与する新規Ca<sup>2+</sup>シグナル分子としてCa<sup>2+</sup>感受性受容体を同定し、以下の研究成果を示した。①Ca<sup>2+</sup>感受性受容体がIPAH-PASMCsに高発現し、その機能増強がPAHの病態に関与していること。②Ca<sup>2+</sup>感受性受容体の選択的阻害薬が、肺高血圧症モデル動物の病態を改善した。③PAHの臨床的な懸念事項であったノンレスポonder（Ca<sup>2+</sup>ブロッカー抵抗性）の分子機構を科学的に証明した。今後、本研究で得られた研究成果を基盤として、PAHの発症と病態形成における分子機構のさらなる解明、およびCa<sup>2+</sup>感受性受容体を分子標的とした新規PAH治療薬の創薬を推進していきたいと考えている。

本研究の遂行にあたり、多大な御協力を頂きましたイリノイ大学シカゴ校医学部（現アリゾナ大学医学部）Jason X.-J. Yuan教授、およびYuanラボのメンバー、および共同研究者の皆様にご心より感謝致します。

### 文 献

- 1) 日本循環器学会学術委員会合同研究班：中西宣文，安藤太三，植田初江，ほか：肺高血圧症治療ガイドライン（2012年改訂版）．循環器病の診断と診療に関するガイドライン（2011年度合同研究班報告）．[http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2012\\_nakanishi\\_h.pdf](http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2012_nakanishi_h.pdf)（最終アクセス：2015年7月31日）
- 2) Morrell NW, Adnot S, Archer SL, et al: Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* **54**: S20-31, 2009
- 3) Yamamura A, Guo Q, Yamamura H, et al: Enhanced Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor function in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circ Res* **111**: 469-481, 2012
- 4) 山村 彩，山村寿男，Yuan JX：肺高血圧症におけるCa<sup>2+</sup>感受性受容体の機能亢進．*薬誌* **133**: 1351-1359, 2013
- 5) Yamamura A, Yamamura H, Guo Q, et al: Dihydropyridine Ca<sup>2+</sup> channel blockers increase cytosolic [Ca<sup>2+</sup>] by activating Ca<sup>2+</sup>-sensing receptors in pulmonary arterial smooth muscle cells. *Circ Res* **112**: 640-650, 2013