

氏名	本田 洵也		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博甲第 8793 号		
学位授与年月	平成 30年 7月 31日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	マウス肺高血圧モデルに対する GLP-1 受容体作動薬による改善効果の検討		
主査	筑波大学教授	薬学博士	橋本 幸一
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	古川 宏
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	坪井 洋人
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	下條 信威

## 論文の内容の要旨

本田 洵也氏の博士学位論文は、マウス肺高血圧モデルにおける GLP-1 受容体作動薬の改善効果を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

肺高血圧症は慢性進行性の肺血管平滑筋・新生内膜増殖を特徴とする難治性疾患である。肺高血圧の本態は、平滑筋細胞増殖による肺動脈狭窄、一酸化窒素 (NO) 産生低下などの内皮細胞機能障害による血管収縮である。積極的薬物治療を行っても、肺高血圧症の進行を阻止しえず、肺移植を施行せざるを得ない患者も少なからず存在する。このような患者の予後を改善するためには、既存の治療薬以外の作用機序を持つ新薬の開発が期待される。

ここで筆者は、GLP-1 (glucagon-like peptide-1) 受容体作動薬である liraglutide に着目した。

Liraglutide は GLP-1 受容体を介して膵β細胞に作用して、インスリン分泌を促進する糖尿病治療薬である。また GLP-1 受容体作動薬が血管内皮細胞の NO 分泌促進による血管拡張を有することが報告されている。また GLP-1 受容体作動薬は、血管平滑筋の増殖抑制作用を有することも報告されている。

本論文の目的は、低酸素誘発性マウス肺高血圧モデルを作製し、liraglutide 投与により肺動脈圧が低下するかどうかを検証し、さらに肺高血圧の病態の鍵となる肺動脈の血管肥厚や細胞増殖および NO 合成などにおけるその役割を明らかにして、肺高血圧治療の新たなターゲットとしての liraglutide の可能性について検討することとしている。著者は、以上の目的を検証するために 5 つの実験を行っている。

実験 1 では、liraglutide の右室重量、右室圧などに対する影響を検討している。Liraglutide は、低酸素誘発性肺高血圧症マウスモデルの右室圧を有意に改善させた。この改善には、右室重量の低下や心負荷・心肥大のマーカーである β-MHC 発現の低下を伴っていた。実験 2 では、liraglutide の肺動脈中膜肥厚における影響を検討しているが、liraglutide は、低酸素誘発性肺高血圧症マウスモデルの肺動脈中膜肥厚を有意に改善させたことを明らかにしている。実験 3 では、肺組織における eNOS、AMPK の発現を検討している。Liraglutide により、肺組織における eNOS の mRNA 発現およびリン酸化 eNOS の蛋白発現の有意な増加を認めた。またリン酸化 AMPK 蛋白発現の有意な増加を明らかにしている。実験 4 では 肺動脈における GLP-1 受容体の発現を検討している。肺動脈の免疫染色にて肺動脈内皮

細胞に GLP-1 受容体の発現を確認した。さらに低酸素により低下した GLP-1 受容体の mRNA 発現は liraglutide 投与により、有意に増加した。実験 5 ではエンドセリン受容体の発現の検討をしている。低酸素下で ET<sub>A</sub> 受容体、ET<sub>B</sub> 受容体の mRNA 発現は低下していたが、liraglutide により、肺組織における ET<sub>B</sub> 受容体の発現の回復を認めた。また蛋白発現については、低酸素下で ET<sub>A</sub> 受容体の発現が亢進していたが、ET<sub>B</sub> 受容体の発現は有意な変化がみられなかった。低酸素下での liraglutide 投与により、ET<sub>A</sub> 受容体、ET<sub>B</sub> 受容体の蛋白発現の増加を認めた。

本研究では、リラグルチド投与により肺組織での eNOS mRNA 発現の増加およびリン酸化 eNOS の蛋白発現の増加が生じていた。また eNOS の上流のシグナルであるリン酸化 AMPK のタンパク発現の増加を認めた。以上のことから、著者は、肺動脈圧および肺動脈中膜の改善効果は肺血管の NO 産生増加を介した機序であることが示唆している。一方、ET-1 (Endothelin-1) による ET<sub>B</sub> 受容体の活性化は、血管内皮細胞における内皮由来弛緩因子の遊離および血中 ET-1 のクリアランスを介して、肺血管リモデリングに拮抗する。本研究では liraglutide 投与により、血管内皮細胞に存在する ET<sub>B</sub> 受容体の発現の回復を認めており、NO 分泌の促進および肺血管のリモデリングの改善につながった可能性が示唆された。一方で ET<sub>A</sub> 受容体も同様に liraglutide 投与により増加しており、平滑筋細胞の ET<sub>A</sub> 受容体を介して肺血管リモデリングを促進した可能性が考えられるが、ET<sub>A</sub> 受容体は血管内皮細胞では発現していないため、liraglutide による肺高血圧改善効果は主に肺動脈内皮細胞に対する ET<sub>B</sub> 受容体の増加であると著者は考察している。

著者はマウス低酸素誘発性肺高血圧モデルにおいて、GLP-1 受容体作動薬である liraglutide が、右室収縮期圧が低下し、右室肥大及び肺動脈中膜肥厚の改善させたことを明らかにしている。eNOS の mRNA 発現およびリン酸化 eNOS、リン酸化 AMPK のタンパク発現が増加しており、これらの改善効果は肺血管の NO 産生増加を介した機序であることが示唆された。また ET<sub>B</sub> 受容体の mRNA 発現の回復を認めており、NO 分泌の促進および肺血管のリモデリングの改善につながった可能性が考えられた。肺高血圧症の発症メカニズムには種々の要因が関与しており、GLP-1 の役割に関しても、まだ明らかにすべき点が多い。今後、発症メカニズムの解明とともに、臨床試験により liraglutide の有効性が示されれば、肺高血圧症治療へ大きく貢献するものと期待される。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

本研究は、未だに治療法が十分でない肺高血圧症に対して、GLP-1 受容体作動薬に注目し、liraglutide を用い、低酸素誘発性肺高血圧症マウスモデルにおいてその効果を示し、さらにその作用機序を明らかにしたものである。今後、他の薬剤との有効性の比較、適切な投与量および投与タイミングなどを検討し、臨床での応用が期待される。

平成 30 年 6 月 6 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。