

氏名	おおむら じゅんいち 大村 淳一
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成29年3月24日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	Protective Roles of Endothelial AMP-Activated Protein Kinase Against Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension in Mice (血管内皮 AMP 活性化プロテインキナーゼの肺高血圧症発症に対する抑制機構の解明)
論文審査委員	主査 教授 下川 宏明 教授 上月 正博 教授 一ノ瀬 正和

## 論文内容要旨

【背景】肺高血圧症は、発症後の平均生存期間が成人例で未治療の場合約3年と重篤であり、薬剤による根治は困難で肺移植の適応疾患である。近年では病態の解明と治療薬の開発が進んだが、依然として致命的疾患である肺高血圧症において、新しい治療薬が求められている。これまで、肺高血圧症患者の血中には各種の炎症性サイトカインが高濃度に存在し、長期的な生命予後と相関することが知られていたが、肺動脈への直接的な作用や肺高血圧症悪化との因果関係は明らかではない。加えて血管内皮 AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) が血管恒常性維持に重要であることは、下川らの報告 (ATVB, 2014) で示されているが血管内皮 AMPK の肺高血圧における役割は不明である。

【方法と結果】蛍光免疫染色により肺高血圧症患者および低酸素誘発性肺高血圧マウス由来の肺組織において血管内皮 AMPK の発現低下を認めた。そこで、血管内皮 AMPK の肺高血圧進行における役割を調べるために、血管内皮特異的 AMPK 欠損マウスを作成した。血管内皮特異的 AMPK 欠損マウスは野生型マウスに比して、肺組織の内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) の低下・血管内皮細胞接着分子 (VCAM-1) 上昇・増殖因子の増加 (PDGF-BB・FGF-2) を認め、肺動脈の肥厚と低酸素誘発性肺高血圧の増悪を示した。更に AMPK 阻害剤を投与した肺血管内皮細胞 (PAEC) では血管新生が低下し、PAEC の細胞増殖は抑制された。また、AMPK 阻害剤で刺激した PAEC 由来の培養上清は、肺血管平滑筋細胞 (PASMC) の細胞増殖と遊走能を促進した。肺高血圧症患者の血清にはインターロイキン-6 や腫瘍壊死因子に代表される様々な炎症性サイトカインや増殖因子が含まれていた。肺高血圧症患者由来の血清による刺激は、PAEC における AMPK 発現低下と VCAM-1 発現亢進を来し、細胞増殖の抑制を示した。一方、肺高血圧症患者由来の血清は PASMC においては AMPK 発現低下と VCAM-1 発現亢進を示し、細胞増殖を促進した。さらに、AMPK 活性化剤であるメトホルミンの投与は、マウス肺組織における AMPK 活性化・VCAM-1 低下・eNOS リン酸化を促進し、肺動脈肥厚の抑制と低酸素誘発性肺高血圧の著しい改善効果を示した。

(書式12)

**【結論】** 血管内皮 AMPK の抑制による PAEC の血管内皮機能の低下と細胞増殖能の低下を示した。さらに、血管内皮 AMPK の抑制によるパラクライン効果として PASMC の増殖が促進され遊走能が亢進することを明らかにした。これらの結果はすべて肺高血圧の増悪に寄与した。また、炎症性サイトカインにより肺血管内皮 AMPK が抑制されることを明らかにした。以上より、血管内皮 AMPK は炎症と肺高血圧の特徴である細胞増殖障害 (PASMC の増殖亢進、PAEC の増殖抑制) をつなぐ重要な分子であることが示された。メトホルミンに代表される AMPK 活性化を標的とする肺高血圧治療の新しい薬物治療の開発が期待された。

## 審査結果の要旨

博士論文題目 Protective Roles of Endothelial AMP-Activated Protein Kinase Against Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension in Mice  
(血管内皮 AMP 活性化プロテインキナーゼの肺高血圧症発症に対する抑制機構の解明)

所属専攻・分野名 医科学専攻・循環器内科学分野  
学籍番号 B3MD5023 氏名 大村 淳一

肺高血圧症は血管内腔の狭小化・閉塞により肺高血圧・右心不全を呈する原因不明の致死性疾患である。近年では病態の解明と治療薬の開発が進んだが、依然として致死的疾患である。また、肺高血圧症患者の血中には炎症性サイトカインが高濃度に存在し、長期的な生命予後と相関することが知られていたが、肺高血圧症悪化との因果関係は明らかではない。加えて、血管内皮 AMP 活性化プロテインキナーゼ(AMPK)が血管恒常性維持に重要であることは既に報告されているが、血管内皮 AMPK の肺高血圧における役割は不明である。

本研究では、肺高血圧症患者および肺高血圧症マウスモデルにおいて肺動脈内皮の AMPK が抑制されていることを明らかにした。さらに血管内皮 AMPK の肺高血圧進行における役割を調べるために、血管内皮特異的 AMPK 欠損マウスを作成した。血管内皮特異的 AMPK 欠損マウスは肺組織の内皮型一酸化窒素合成酵素(eNOS)の低下・血管内皮細胞接着分子(VCAM-1)上昇を認め、肺高血圧の増悪を示した。更に AMPK 阻害剤を投与した肺血管内皮細胞(PAEC)では血管新生が低下し、細胞増殖は抑制された。また、AMPK 阻害剤で刺激した PAEC 由来の培養上清は、肺血管平滑筋細胞の細胞増殖を促進した。肺高血圧症患者由来の血清には様々な炎症性サイトカインや増殖因子が含まれていた。肺高血圧症患者由来の血清が肺動脈血管内皮の AMPK を直接抑制することで内皮機能低下させること、さらに肺動脈血管平滑筋細胞の増殖を促進し、結果として肺高血圧を促進することを示した。最後に、AMPK 活性化剤であるメトホルミンの投与は、マウス肺組織における AMPK 活性化・VCAM-1 低下・eNOS リン酸化を促進し、肺高血圧の著しい改善効果を示した。

本研究は血管内皮 AMPK が炎症と肺高血圧の特徴である細胞増殖障害(血管平滑筋細胞の増殖亢進、血管内皮細胞の増殖抑制)をつなぐ重要な分子であることを示した。さらに、メトホルミンが肺動脈血管内皮の AMPK を活性化し、マウスにおいて顕著な肺高血圧治療効果を有するという重要な新規の知見を世界で初めて明らかにした。AMPK 活性化を標的とする肺高血圧治療の新しい薬物治療の開発が期待される。研究の新規性、および臨床的重要性の点で極めて優れていると判断する。よって、本論文は博士(医学)の学位論文として合格と認める。