

氏 名	朴 貴 典
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3229 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Therapeutic Potential of Atrial Natriuretic Peptide Administration on Peripheral Arterial Diseases (リコンビナント ANP の末梢動脈疾患に対する治療効果に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 横 出 正 之 教 授 伊 藤 壽 一 教 授 三 嶋 理 晃

論 文 内 容 の 要 旨

ナトリウム利尿ペプチド (NP) は、膜型グアニル酸シクラーゼそのものである受容体と cGMP 依存性プロテインキナーゼ (cGK) を介して生物作用を発揮する。申請者の所属する研究室においては、マウスを用いて大腿動脈結紮切除による末梢動脈疾患 (PAD) モデルが確立され、遺伝子改変マウスを用いた検討にて、NP/cGK 経路の活性化により、虚血後の血流回復が促進されることが示されている。本研究では、糖尿病患者や腎不全患者で罹患肢切断に至ることの多い PAD に対する有効な治療法を開発する目的で、ヒト心房性 NP (ANP) (カルペリチド) を糖尿病マウスにて作製した PAD モデルに投与して有効性を確認し、糖尿病や腎不全を合併する PAD 患者へのカルペリチド静脈内持続投与の治療効果を検討した。

8 週齢雄性 C57BL/6 マウスに対してストレプトゾトシン (STZ) を腹腔内投与して糖尿病を誘発し、その後 16 週間糖尿病状態を維持した糖尿病群と対照群に対して PAD モデルを作製し、浸透圧ポンプを用いて $2.2 \mu\text{g/kg/min}$ のカルペリチドあるいは生理食塩水を腹腔内に持続投与した。この対照・生理食塩水群、対照・カルペリチド群、糖尿病・生理食塩水群、糖尿病・カルペリチド群の 4 群において、下肢血流をレーザードップラーイメージにより経時的に観察し、術後 21 日目には虚血組織の毛細血管密度を血小板内皮細胞接着分子 1 免疫染色にて評価した。対照・生理食塩水群と比較して糖尿病・生理食塩水群で有意な血流回復の遅延と毛細血管密度の低下を認めた。糖尿病・カルペリチド群は糖尿病・生理食塩水群と比較して、対照・カルペリチド群は対照・生理食塩水群と比較して、それぞれ血流回復と毛細血管密度が改善し、糖尿病・カルペリチド群では対照・生理食塩水群と同等まで回復した。

以上の基礎検討の成果を踏まえ、PAD 患者を対象としてカルペリチド静脈内持続投与の治療効果を検討した。投与量は収縮期血圧が 100 mmHg 未満に低下しないように $0.006 \sim 0.1 \mu\text{g/kg/min}$ の範囲で症例毎に設定し、投与期間は原則 2 週間、皮膚潰瘍例では 4 週間とした。対象の 13 例は Fontaine 分類 II 度 5 例、III 度 2 例、IV 度 5 例と、冷感のみを主症状とする 1 例であった。合併症として高血圧症を 12 例、2 型糖尿病を 11 例、腎不全を 7 例に認めた。カルペリチド投与により血中 ANP 濃度は $224 \pm 93 \text{ pg/ml}$ から $400 \pm 125 \text{ pg/ml}$ に、血中 cGMP 濃度は $14.4 \pm 3.5 \text{ nM}$ から $24.0 \pm 4.5 \text{ nM}$ に上昇した。投与後、8 例で下肢の温熱感を認め、投与前に間欠性跛行を認めた 5 例全例で歩行耐用能が改善した。また、5 例中 2 例で安静時痛が消失し、2 例で軽減した。さらに、皮膚潰瘍を有した 5 例中 3 例で病巣が縮小した。足関節上腕血圧比は 0.61 ± 0.08 から 0.72 ± 0.09 に有意に上昇した。有害事象は、浮腫増強 5 例、一過性悪心 1 例、顔面紅潮 1 例であった。

以上、本研究では、マウス PAD モデルを用いてカルペリチド投与の血管再生作用による虚血後血流の改善効果を明らかにし、さらに PAD 患者 13 例を対象とした臨床試験でカルペリチド静脈内持続投与の臨床的有用性を確認した。これらの成績は、PAD に対する新規治療薬としてのカルペリチドの有用性を示唆するものである。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、内皮細胞の増殖を促進し血管再生作用を有することが明らかになったナトリウム利尿ペプチドのうち、心房

性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）の末梢動脈疾患に対する有用性を、マウス及びヒトを対象に検討した。

ストレプトゾトシンで糖尿病を誘発したマウスあるいは対照マウスに、片側大腿動脈結紮切除により末梢動脈疾患モデルを作製し、ヒトリコンビナント ANP であるカルペリチドあるいは生理食塩水の腹腔内持続投与を行なった。対照マウスにおいては、カルペリチド投与により虚血後の血流回復が促進され、毛細血管密度の増加を認めた。一方、16 週間糖尿病状態としたマウスでは、対照マウスと比較して虚血肢の毛細血管密度が低く、血流回復が障害されていたが、カルペリチドにより対照マウスと同程度まで回復した。

この成績をもとに、13 例の末梢動脈疾患患者を対象としたカルペリチド静脈内持続投与の臨床試験を行なった。2 週間のカルペリチド静脈内持続投与により、足関節上腕血圧比は有意に上昇し、8 例で下肢末梢の温感が認められた。また、間欠性跛行が認められた 5 例全例で運動耐用能の改善が認められ、さらに、安静時痛を訴えた 6 例中 5 例で疼痛が軽減し、皮膚潰瘍を呈した 5 例中 3 例で潰瘍の縮小が認められた。

以上の研究は、末梢動脈疾患におけるナトリウム利尿ペプチドの臨床的意義の解明に貢献し、末梢動脈疾患の治療法の開発に寄与することが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものとみとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成 20 年 2 月 13 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。