

Identification of Emetine as a Novel Therapeutic Agent for Pulmonary Hypertension in Rats -High-throughput Screening of 5,562 Compounds-

著者	MOHAMMAD ABDUL HAI SIDDIQUE
号	88
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3922号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00126388

氏名	モハマドアブダル ハイ シディック Mohammad Abdul Hai Siddique
学位の種類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 31 年 3 月 27 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	Identification of Emetine as a Novel Therapeutic Agent for Pulmonary Hypertension in Rats -High-throughput Screening of 5,562 Compounds- (5,562 化合物のハイスループットスクリーニングによる肺高血圧症治療薬としてのエメチンの同定)
論文審査委員	主査 教授 下川 宏明 教授 岡田 克典 教授 三浦 昌人

論文内容要旨

Background: Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a fatal disease characterized by enhanced proliferation and reduced apoptosis of pulmonary arterial smooth muscle cells (PASMCs). Here, we target hyperproliferative feature of PASMC in patients with PAH to discover a novel drug that inhibits its proliferation. **Methods and Results:** To discover a novel compound for PAH patients from the original 5,562 compounds, we performed stepwise screenings for 5,562 compounds from original library. In the first screening, we performed MTT assay for each compound (5 μ M/L) and found 80 compounds that effectively inhibited proliferation compared with controls (>20%). In the second screening, we performed the repeatability assay and the counter assay to exclude the compounds with cell toxicity. In the third screening, we performed a concentration-dependent assay and finally found that emetine inhibits PAH-PASMCs proliferation without any toxicity in normal PASMCs. Interestingly, emetine significantly reduced protein levels of hypoxia-inducible factors (HIF-1 α and HIF-2 α) and downstream pyruvate dehydrogenase kinase 1. Moreover, emetine significantly reduced the protein levels of RhoA, Rho-kinase (ROCK1 and ROCK2), and their downstream cyclophilin A and basigin in PAH-PASMCs. Consistently, emetine treatment significantly reduced the secretion of cytokines/chemokines and growth factors from PAH-PASMCs. Next, we performed functional tests for emetine in vivo. Six-week-old male SD rats were used for the two experimental PH models; monocrotaline-induced PH model and SU5416/hypoxia-induced PH model. Importantly, emetine treatment as 0.05 mg/kg/day which is twenty times much lower than clinical dose in human ameliorated pulmonary hypertension in two experimental rat

(書式 1 2)

models by reducing right ventricular systolic pressure (RVSP), right ventricular hypertrophy (RVH), and pulmonary artery (PA) remodeling compared with vehicle controls. Moreover, emetine treatment reduced inflammatory cytokines/chemokines and growth factors in serum compared with vehicles controls. Finally, emetine treatment improved RV functions and enhanced exercise capacity compared with vehicle controls.

Conclusions: By using high-throughput screening, we identified emetine that reduces excessive proliferation of PAH-PASMCs and ameliorates pulmonary arterial hypertension, is a natural alkaloid extracted from *Psychotria ipecacuanha*, which has been traditionally used to treat cough and amebiasis.

審査結果の要旨

博士論文題目 Identification of Emetine as a Novel Therapeutic Agent for Pulmonary Hypertension in Rats-High-throughput Screening of 5,562 Compounds-

所属専攻・分野名 医科学専攻・循環器内科学分野

学籍番号 B5MD5118 氏名 Mohammad Abdul Hai Siddique

肺動脈性肺高血圧症（PAH）は、肺血管内皮機能低下・血管平滑筋細胞増殖・炎症細胞浸潤などが複雑に相互作用し、肺微小血管のリモデリングが進行することにより、肺血圧上昇から右心不全に至る致死の疾患である。重症患者を救う最終手段は依然として肺移植のみに限られるが、ドナー数は限られ、移植まで間に合わない症例が後を絶たず、一方で、肺動脈平滑筋細胞のがん類似の異常増殖による高度な肺血管リモデリングのために、血管拡張薬を主とした内科的多剤併用療法によっても右心不全のコントロールに難渋し、若くして命を落とす症例が多い。そのため、従来の治療薬がターゲットとする作用機序によらない、根本的な治療薬の開発が長く待ち望まれている。

本研究では、東北大学化合物ライブラリーより PAH に対する新規治療薬を探索した。一次スクリーニングでは、High Throughput screening により、PAH 患者由来の PASM (PAH-PASM) を 5562 化合物で治療し、最も細胞増殖を抑制した 80 化合物を選出した。二次スクリーニングでは、再現性試験、カウンターアッセイ、濃度依存性試験を行い、PAH-PASM の細胞増殖を抑制し、ヒト由来正常 PASM に強い毒性を持たない、低濃度で有効な化合物 5 種類を発見した。そのうち、Emetine は抗炎症作用、抗酸化作用、ミトコンドリア機能改善作用を示した。その機序として、Emetine 治療後の HIF-1 α 、BRD4 の抑制が重要な役割を果たしていることが示唆された。Emetine を、モノクロタリン誘発性肺高血圧症ラット、Hypoxia/SU5416 誘発性肺高血圧症ラットに投与すると、肺高血圧の改善を認めた。

本研究では化合物スクリーニングにより PAH-PASM の細胞増殖を抑制する化合物が発見され、さらに肺高血圧症モデル動物でその治療効果が得られた。研究の新規性、および臨床的重要性の点で優れた研究であると判断する。

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。

(895 字/800-1000 字)