

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 飯 島 勝 矢

フランス人は欧米型の食生活にも関わらず、動脈硬化性心疾患の死亡率が他の欧米諸国と比べて低いことが疫学的調査により知られており、その現象は「フレンチ・パラドックス」として広く注目を集めている。その原因の 1 つとして赤ワインの消費が多いこととの関連が想定され、今までのところ、赤ワイン中のポリフェノールが LDL コレステロールへの抗酸化作用を持つことが報告されている。従来の赤ワインポリフェノールに関する研究は、脂質との関連を中心に臨床的観察にとどまっており、循環器研究の立場から血管に対する直接作用を調べた研究は報告がない。動脈硬化病変が進展する上で、血管平滑筋細胞の内膜側への遊走および過剰増殖は重要な現象であることから、本研究は、培養血管平滑筋細胞の 1) 増殖能、及び 2) 遊走能に対する赤ワインポリフェノールの作用を検討することにより、赤ワインポリフェノールの動脈硬化抑制機序を特に細胞・遺伝子レベルの見地で明らかにし、ポリフェノールの抗動脈硬化作用の新しい機序の解明を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1) 赤ワインポリフェノールの培養血管平滑筋細胞・培養血管内皮細胞における増殖能に対する効果の解析の結果、赤ワインポリフェノールは血管平滑筋細胞に対し細胞数、DNA 合成能ともに至適血中濃度範囲内で濃度依存性に抑制し、逆に血管内皮細胞に対しては高濃度 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の場合を除いては抑制効果が認められなかった。

2) 赤ワインポリフェノールの血管平滑筋細胞に対する増殖抑制作用において、細胞周期関連遺伝子の一つ cyclin A 遺伝子発現および promoter 活性に対する効果を検討したところ、赤ワインポリフェノールは cyclin A 発現および

promoter 活性を濃度依存性に抑制した。(ちなみに血管内皮細胞では抑制効果は認められなかった。) さらに、赤ワインポリフェノールは血管平滑筋細胞の核タンパクと DNA オリゴヌクレオチド内の ATF 部位への結合を抑制し、その中に存在する転写因子 (CREB, ATF-1) の発現も抑制し、赤ワインポリフェノールの cyclin A 遺伝子発現抑制作用が転写因子レベルからの抑制であることが示唆された。

3) 赤ワインポリフェノールの培養血管平滑筋細胞・培養血管内皮細胞における細胞遊走能に対する効果の解析の結果、遊走実験である Wounding 法および Boyden chamber 法において、赤ワインポリフェノールは PDGF-BB 刺激または血清刺激による血管平滑筋細胞の遊走能を抑制した。しかし、血管内皮細胞に対しては最大濃度 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ においても有意な遊走抑制効果は認められなかった。

4) 赤ワインポリフェノールの血管平滑筋細胞に対する遊走抑制作用において、細胞遊走能を司っている細胞内シグナルを検討したところ、血管平滑筋細胞に赤ワインポリフェノールを前処置することにより、PDGF-BB 刺激による独立した細胞内シグナル系である PI3-kinase と p38MAPK の活性が選択的に抑制された。赤ワインポリフェノールのこのシグナル活性抑制効果は、classic MAPK である ERK1/2 の活性においては最高濃度以外では認められなかった。

以上、本論文は赤ワインポリフェノールの LDL コレステロールへの酸化抑制作用だけでなく、血管平滑筋細胞の増殖・遊走抑制作用など血管構成細胞に対しても様々な抗動脈硬化作用を持ち合わせていることを特に細胞・遺伝子レベルの見地から明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった、赤ワインポリフェノールの持つ別の抗動脈硬化作用の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与にあたいするものと考えられる。