

[別紙1]

論文の内容の要旨

論文題目 Reactive oxygen species: a key modulator in the progression of pulmonary vascular remodeling and left ventricular diastolic dysfunction.

和訳 (肺血管・左室拡張機能障害形成過程における調節因子としての活性酸素種)

指導教官 藤田敏郎 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成13年4月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 松井 宏光

背景

活性酸素種(ROS)が、心血管疾患と密接な関係を有することが知られている。ROSの増加が心血管疾患の病勢に相関するだけでなく、ROS自体が病態形成のシグナルであるとする知見が得られつつある。

まずROSと血管障害に関するモデルとして、低酸素刺激による肺血管障害モデル(ROS on the vascular aspect)を作成した。低酸素刺激は、ROSの過剰産生を介して血管障害を惹起させることが知られている。一方低酸素刺激・ROSはアドレノメデュリン(AM)の発現を亢進させる。AMの持つ血管保護作用はROSの抑制を介することが、AMノックアウトマウス(AM^{+/+})にangiotensinおよび高食塩を負荷した検討などで報告されている。したがって低酸素刺激-肺血管障害の過程においても、AMの血管保護作用が、ROS抑制を介している可能性が考えられ、今回検討することとした。

次にROSと心機能障害に関するモデルとして、ROSの過負荷による左室弛緩障害モデル(ROS on cardiac aspect)を作成した。Aortic-bandingによる圧負荷モデルでは、ROSの過剰産生により左室弛緩障害が惹起されることが

報告されているが、ROS が圧負荷に非依存的に左室弛緩障害をもたらすかは報告がない。Dahl 食塩感受性(DS)ラットでは、高食塩負荷により血圧上昇・ROS の増加・左室拡張障害が誘発される。DS ラットに対する高食塩負荷に加え、 γ -glutathione 合成阻害薬である BSO を投与し ROS を過負荷させ、左室弛緩機能の変化を検討した。

方法・結果

肺血管障害モデルでは、野生型($AM^{+/+}$)および $AM^{+/-}$ を 10%酸素濃度下で 3 日から 21 日間飼育した。血管障害を肺動脈の中膜肥厚で、ROS 産生を電子スピン共鳴法・3-nitrotyrosine に対する免疫染色にて評価した。慢性低酸素刺激は血管障害・ROS 産生の増加を惹起させたが、その程度は $AM^{+/-}$ において $AM^{+/+}$ より顕著であった。特に ROS の増加は低酸素刺激 3 日後をピークとする時間経過を示した。一方外因性の AM 補充は、抗酸化作用を有する hydroxyl-TEMPO の投与と同様に、 $AM^{+/+}$ だけでなく $AM^{+/-}$ においても血管障害を改善し、ROS の増加を抑制した。また RT-PCR 法にて $AM^{+/+}$ における低酸素刺激による AM 発現の変化を検討したところ、ROS の時間経過と一致して低酸素刺激 3 日後をピークとする発現の増加を認めたが、hydroxyl-TEMPO の投与により発現の増加は消失したことから、肺組織において ROS が AM 発現増加の刺激となることが示された。以上より、低酸素刺激による肺血管障害形成過程には ROS が関与し、早期からの ROS 抑制が有用な治療戦略となり得る可能性が示された。また内因性の AM は過剰な ROS を抑制する feed-back 機構を担う可能性が示唆された。

左室弛緩障害モデルでは、ドップラーエコー・観血的測定にて左室弛緩障害を、lucigenin (10 μ mol/L) 化学蛍光法で左室組織中の ROS の産生を評価した。DS ラットに対する 4 週間の高食塩単独負荷(HS)により、若干の血圧上昇・NADPH oxidase 由来の ROS の増加・左室弛緩障害を認めた。高食塩に加え BSO を負荷した群(HS+BSO)では、NADPH oxidase 活性の亢進・左室弛緩障害は顕著であったが、hydroxyl-TEMPO により ROS を消去した群(HS+TEMPO)では NADPH oxidase 活性は低下し、左室機能も改善していた。HS+BSO 群では血圧上昇を認めなかったことから、ROS の過負荷により血圧に非依存的に左室弛緩障害が惹起されることが示された。特にこの過程において、ROS 過負荷により NADPH oxidase が活性化される feed-forward 機構の存在が示唆された。さらに負荷を 8 週間に延長すると、HS 群においても、BSO を単独投与した群(NS+BSO)と同様に顕著な NADPH oxidase の亢進・左室弛緩障害を認めた。この NADPH oxidase の亢進・左室弛緩障害は ROS を消去した HS+TEMPO 群では改善したが、hydralazine によって十分に降圧させた群(HS+HY)では改善は認められなかった。

以上の結果から、過剰な ROS の負荷と同様に、食塩感受性に対する慢性的な高食塩負荷によっても、血圧には非依存的に左室の NADPH oxidase 活性が亢進し、左室弛緩障害が惹起されることが示された。

結語

ROS が血管障害や心機能障害の病態形成において持つ重要性が示された。様々な病態において、早期より ROS を減少させる治療が有効である可能性が示唆された。