

## 審査の結果の要旨

氏名 松井 宏光

心血管疾患と密接な関係を有するだけでなく、病態形成のシグナルとされる活性酸素種(ROS)と、血管障害・心機能障害との関係を明らかにするため、低酸素刺激による肺血管障害モデル・ROSの過負荷による左室弛緩障害モデルにて検討し、以下の結果を得ている。

1. 肺血管障害モデルでは、抗酸化作用を有するアドレノメデュリン(AM)ノックアウトマウス( $AM^{+/-}$ )を用い、ROS産生刺激である低酸素暴露に対する反応を野生型( $AM^{+/+}$ )と比較することで、ROSと肺血管障害との関係の明瞭化を試みた。 $AM^{+/-}$ および $AM^{+/+}$ を10%酸素濃度下で3日から21日間飼育し、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。その結果、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すことが確認された。
2. 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。
3. 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た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り、さらにAMが過剰なROSを抑制するfeed-back機構の存在が示唆された。

4. 左室弛緩障害モデルでは、Dahl 食塩感受性(DS)ラットに対し、高食塩負荷に加え、 $\gamma$ -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。ドップラーエコー・観血的測定にて左室弛緩障害を、lucigenin 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 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。
5. 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 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。したがって、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、血圧と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可能性が示された。

以上、本論文は ROS が血管障害や心機能障害の病態形成においてもつ重要性を明らかにした。特に早期より ROS を減少させる治療が有効である可能性が示唆されたことは、今後の臨床治療における新たな展望に貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。