

審査の結果の要旨

氏名 松下（武藤） 明子

本研究は、アルドステロンが心血管系組織へ直接作用する際、遺伝子の転写を介さずにその作用を発揮する、急性作用に関しての研究である。急性のアルドステロンの血管への作用を明らかにするため、培養血管内皮細胞と摘出血管標本を用いて実験を行い、以下の結果を得ている。

1. 培養ウシ大動脈内皮細胞に対するアルドステロンの短時間の処置により、内皮細胞の ATP 刺激による一酸化窒素(NO)の産生が亢進することを、細胞内 NO 産生の Live cell imaging と、培養上清中の NO の定量により示した。
2. 内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) の活性化を示す Ser1179 のリン酸化が、アルドステロン前処置の培養ウシ大動脈内皮の ATP 刺激の際に亢進することを示した。
3. フェニレフリン収縮後ラット大動脈リング標本にアルドステロンを投与し、その後のアセチルコリンによる血管弛緩反応の測定から、アルドステロンの前処置が内皮依存性弛緩反応を亢進することを示した。
4. フェニレフリン収縮後の内皮除去ラット大動脈リング標本にアルドステロンを投与し、その後のニトロプルシドナトリウム (NO ドナー) による血管弛緩反応の測定から、アルドステロンの前処置は内皮非依存性弛緩反応に影響しないことを示した。
5. 1. の培養上清中NO測定と 2.、3. の実験において、アルドステロン処置後の ATP またはアセチルコリン刺激による NO 産生、eNOS リン酸化または内皮依存性弛緩反応の亢進は、選択的ミネラルコルチコイドレセプター (MR) 阻害薬エプレレノン、あるいはフォスファチジルイノシトール 3 キナーゼ (PI3K) 阻害薬 LY294002 により阻害されることを示した。
6. 1. の培養上清中NO測定と 2.、3.、4. の実験において、アルドステロン単独の処置 (アゴニスト刺激無し) は、それぞれ NO 産生、eNOS リン酸化、血管の tone に影響を与えないことを示した。
7. 1. の培養上清中NO測定、また、2. の実験において、アルドステロン 20 時間の処置は、急性の投与で認められる NO 産生、または eNOS リン酸化亢進は認め

以上の結果より、アルドステロンは慢性的には内皮機能を低下させるが、急性的には MR、PI3K 阻害薬に感受性のある経路を介して、アゴニスト刺激による NO 産生を増強するという結論を得ている。また、この NO 産生の増強はアルドステロンによる細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度の変化ではなく、eNOS のカルシウム感受性の亢進が関与していることを明らかにした。

アルドステロンの急性作用には血管収縮性に働くという報告と血管弛緩性に働くという報告があり、この議論は未だ解決していない。本研究は培養内皮細胞とラット摘出血管を用い、アルドステロンの内皮および平滑筋に与える影響をそれぞれ詳細に検討している。従って未解決なこの領域の解明へアプローチする重要な手掛かりを示しているため、学位の授与に値すると考えられる。