

論文の内容の要旨

論文題名 マウス酸化ストレス障害におけるアンジオテンシン II Type 1 受容体拮抗薬の
役割と作用機序に対する検討

指導教員 大内 尉義 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 18 年 4 月入学

医学博士課程

生殖・発達・加齢医学 専攻

氏名 望月 諭

【目的】

アンジオテンシン Type1 (AT1) 受容体拮抗薬である ARB は降圧剤としての作用だけでなく心臓、腎臓をはじめとする臓器保護などの多面的作用が報告されているが、老化や寿命への影響を検討した報告は少なく、その効果は明らかとなっていない。

本研究では、降圧薬として広く用いられている ARB が老化や寿命に及ぼす影響を調べるために、老化研究で広く用いられているマウスの酸化ストレス障害モデルに対する ARB の効果を調べ、ARB の抗老化作用としての可能性について検討を行なった。

【方法】

C57/BL6 系統の野生型マウス（13 週齢オス、n=20）にパラコート 50 mg/kg の単回腹腔内投与を行い酸化ストレス障害モデルを作製した。ARB の 1 種であるオルメサルタン（~2 mg/kg/day）経口投与群と対照群の薬剤投与は、酸化ストレス障害モデル作製 24 時間前より行い、実験終了まで 24 時間毎に毎日強制投与を行った。これらの実験系において酸化ストレス障害モデル作製 2 日後における、酸化ストレスマーカーの尿中 8-Hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)、肺の HE 染色、気管支肺胞洗浄液（BALF）中の白血球数、総タンパク量の測定、Evans blue の血管外露出量を指標とした肺血管透過性測定を行い、臓器障害の変化を比較検討した。次に肺より RNA を抽出しリアルタイム PCR による、炎症関連遺伝子群（サイトカイン等）、酸化ストレス関連遺伝子群（グルタチオン等）、アポトーシス遺伝子群の発現解析を行った。さらに、12 時間毎に 7 日間生存期間を調べ薬剤投与による生存率の変化を比較検討した。また ARB の作用が AT1 受容体を介した作用か、AT1 受容体非依存的な作用か検討するため、野生型マウスと同様手法を用いて AT1 受容体欠損マウスで酸化ストレス障害モデルを作製し、作製 2 日の尿中 8-OHdG、肺の HE 染色、肺の炎症関連遺伝子群（サイトカイン等）の発現解析、生存期間の ARB 投与による変化の比較検討を行った。

【結果】

野生型マウスでは、酸化ストレス障害モデルにより尿中 8-OHdG の排泄量の有意な増加（ $P<0.05$ ）、肺組織像による細胞浸潤の増加（ $P<0.05$ ）、気管支洗浄液中の白血球数と総蛋白量の増加（ $P<0.01$ ）、Evans blue の血管外露出量を指標とした肺血管透過性の亢進（ $P<0.05$ ）などの肺障害を認め、ARB 投与によりこれらの変化はすべて有意に抑制された。肺の遺伝

子発現解析では、酸化ストレス障害モデルにより、炎症関連遺伝子（IL6、Ccl2、Vcam1、Il1a、Il1b）、グルタチオン関連遺伝子（Gpx2、Gsr）の有意な発現亢進（ $P<0.01$ ）がみとめられ、オルメサルタン投与により、これらの遺伝子発現の抑制がみとめられた。生存期間の検討では、ARB 投与群では、対照群と比較して、用量依存的な生存率の改善を認めた（生存率 15% vs 50%、Log-rank $P<0.01$ ）。AT1 受容体欠損マウスを用いた検討では、オルメサルタンの投与群と対照群の間に、尿中 8-OHdG、肺組織像の細胞浸潤、肺の炎症関連遺伝子の発現、生存率に有意差は認められなかった。

これらのことから ARB は、AT1 受容体を介してマウスの酸化ストレス障害を抑制し、さらに肺においては、炎症関連遺伝子の発現を抑制し、酸化ストレス障害に伴う炎症、肺血管透過性亢進を軽減し、生存率を向上させることが示唆された。

【結論】

ARB が老化研究で広く用いられているマウス酸化ストレス障害に対し抗酸化作用、抗炎症作用を有し、生存率を改善する点、またこれらの一部は AT1 受容体を介する作用である点を明らかにした。これらの知見は、降圧薬として広く用いられている ARB が抗老化作用や長寿につながる可能性を示すものであり、今後の健康長寿に向けた新たな創薬、治療法の開発応用につながるものと期待される。