

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
稲元 咲子	主査 教授 北 浦 泰 副査 教授 花 房 俊 昭 副査 教授 勝 間 田 敬 弘 副査 教授 林 秀 行 副査 教授 古 谷 榮 助
主論文題名 Angiotensin-II Receptor Blocker Exerts Cardioprotection in Diabetic Rats Exposed to Hypoxia (糖尿病ラットにおける低酸素曝露の影響とアンジオテンシンII受容体遮断薬の心保護効果)	
学位論文内容の要旨	
<p>《背景および研究目的》</p> <p>近年、糖尿病に睡眠時無呼吸症候群が合併した場合に心血管事故を増加することが明らかにされた。従って、糖尿病患者に本症候群を合併する場合の心血管病変発症機序、予防・治療を明らかにすることが必要である。本症候群が心血管合併症を増加させる機序の1つに低酸素ストレスに対するレニン-アンジオテンシン系(RAS)の活性化が挙げられるが、その詳細は明らかにされていない。そこで、糖尿病モデルラットにおいて低酸素負荷が心臓におよぼす影響、およびアンジオテンシンII受容体遮断薬(ARB)投与の効果を検討した。</p> <p>《対象および方法》</p> <p>2型糖尿病のモデル動物 Otsuka-Long-Evans-Tokushima Fatty (OLETF)ラット(30週齢、雄、n=30)を通常大気(正常酸素群、n=12)および酸素10.0±0.5%(低酸素群、n=18)下で2週間飼育した。低酸素群はさらに2群に分け、vehicle またはアンジオテンシンII受容体遮断薬の candesartan (0.2 mg/kg/day)を腹腔内植え込み式浸透圧ポンプにて投与した。投薬開始2週間後に心行動態、血糖・血清脂質、心筋光顕・電顕観察、ウェスタンブロット法による低酸素誘導因子-1α (HIF-1α)および免疫組織化学によるサイトカイン発現などの検索を行った。結果を平均±標準偏差で表し、統計解析には1元配置分散分析(1-way ANOVA)を用いた。多重比較検定(Post hoc analysis)はDunnett's testにて修正した。また、各群間比較にはStudent's t-testを用い、p<0.05を有意差とした。</p> <p>《結果》</p> <p>低酸素群では正常酸素群に比較し実験開始早期から食餌摂取量の減少や活動性の低下がみられ、血清総コレステロールおよび中性脂肪値が低下した。一方、血糖・血清LDLコレステロール値には差がなかった。心重量/体重比は低酸素群で増加した。ARB投与は血糖値や血清脂質に影響を与えず、心重量および心重量/体重比の増加を抑制した。</p> <p>心行動態に関して、低酸素負荷群で右室収縮期圧が78±14 mmHgと正常酸素群(22±5 mmHg)に比べ上昇したが、左室収縮期血圧は低酸素負荷群131±23 mmHg、正常酸素群121±10 mmHgと上昇傾向を認めるのみであった。また、低酸素群において、ARB投与により右室収縮期圧(46±7</p>	

mmHg) および左室収縮期血圧 (100 ± 18 mmHg) が低下した。

低酸素群において心筋細胞横径は右室 $20.2 \pm 1.4 \mu\text{m}$ 、左室 $24.8 \pm 1.2 \mu\text{m}$ と正常酸素群の右室 $17.1 \pm 1.1 \mu\text{m}$ 、左室 $21.1 \pm 2.1 \mu\text{m}$ に比較して大きかった。また、低酸素群の光顕で心筋線維の錯綜配列および間質の線維化が、電顕では左室心筋細胞ミトコンドリアの膨化やクリステの破壊が著明であった。ARB 投与によりこれらの光顕所見は正常酸素群と同程度にまで抑制され、左室心筋細胞ミトコンドリアの変性所見も軽度であった。

低酸素群において左右心室心筋の HIF-1 α および血管内皮増殖因子 (VEGF) 発現の増強がみられ、右室心筋でエンドセリン-1 (ET-1) の増加を認めた。また、これらは ARB 投与により抑制された。

《 考 察 》

本研究は、糖尿病心では低酸素負荷により心筋細胞変性や間質の線維化が増強し、ARB が有効であることを実験的に示したものである。糖尿病心において低酸素負荷により心筋細胞の肥大・錯綜配列、ミトコンドリアの膨化・クリステの破壊などが増強する機序に、HIF-1 α をはじめ VEGF・ET-1 などが関与し、ARB はこれらのサイトカイン発現を抑制することによって心筋障害を軽減したと考えられる。

申請者らは、すでに長期低酸素負荷がアポリポプロテイン E ノックアウト (apo E-KO) マウスにおいて肺高血圧や動脈硬化病変の増悪をきたすことを報告している (Hypertension Research 28: 837-45, 2005)。本研究においても右室圧の著明な上昇があり、OLETF ラットは apo E-KO マウスに比較して実験早期から食餌摂取量の減少や活動性の低下がみられたことより、低酸素に対する感受性が高いと思われる。ARB 投与は心拍数・血糖・血清脂質に影響を与えず、右室圧および左室圧を低下させ、その降圧効果は正常酸素群に比較して著明であった。ARB 投与による降圧効果が低酸素負荷群で大きい理由に、ラットの体重減少にともなう血中 ARB 濃度の上昇、高血糖および低酸素負荷による心血管系 AT1 レセプターの up-regulation などが考えられる。

低酸素群でみられた右室心筋障害は、右室圧上昇のほか、心筋における ET-1 発現増加によって引き起こされた可能性があり、収縮期圧上昇を来さなかった左室においても、心筋細胞の肥大、ミトコンドリアの膨化・クリステの破壊などが認められた。特に心筋細胞ミトコンドリアの変性が高度であり、糖尿病心では低酸素に対するミトコンドリアの感受性が高まっていると考えられる。低酸素ストレスは血管細胞のミトコンドリアで活性酸素種を誘導し血管障害を促進するとされており、心筋細胞においても類似した機序が示唆される。また、HIF-1 α は多くの前血管新生遺伝子発現を調節するとされ、低酸素環境下での糖尿病ラット心筋の VEGF および ET-1 発現増強は HIF-1 α と関連していると推定される。HIF-1 α は左室心筋に比較して右室心筋において増加傾向を示し、反対に VEGF は左室心筋において増加傾向を示した。これらの機序についてはさらに研究が必要である。

ARB 投与は低酸素負荷ラット心筋における HIF-1 α ・VEGF・ET-1 発現を抑制し、ミトコンドリア変性を軽減した。その機序に RAS の関与が考えられるが詳細は不明である。

今後、睡眠時無呼吸症候群に類似した間欠的低酸素負荷の心臓に対する影響および ARB 投与の効果を検討すべきと考える。

《 結 論 》

糖尿病ラットにおいて、ARB 投与は低酸素負荷による心障害に対して心保護的に働いた。糖尿病患者が睡眠時無呼吸症候群を合併する場合、ARB 投与は心障害の発症・進行を抑制する可能性が期待できる。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	稲元 咲子
論文審査担当者		主 査 教授 北 浦 泰 副 査 教授 花 房 俊 昭 副 査 教授 勝 間 田 敬 弘 副 査 教授 林 秀 行 副 査 教授 古 谷 榮 助	
主論文題名 Angiotensin-II Receptor Blocker Exerts Cardioprotection in Diabetic Rats Exposed to Hypoxia (糖尿病ラットにおける低酸素曝露の影響とアンジオテンシン II 受容体遮断薬の心保護効果)			
論文審査結果の要旨			
<p>近年、睡眠時無呼吸症候群が注目されるようになり、本症候群が糖尿病患者に合併した場合に心血管事故の危険因子となることが知られている。従って、糖尿病に対する低酸素負荷の影響を明らかにし、予防法を検討する必要がある。本症候群が心血管合併症を増加させる機序の1つに低酸素ストレスに対するレニン-アンジオテンシン系の活性化が提唱されている。</p> <p>申請者は、糖尿病モデルラットを用いて低酸素負荷が心臓におよぼす影響、およびアンジオテンシン II 受容体遮断薬 (ARB) 投与の効果を検討している。すなわち、2 型糖尿病モデル動物である Otsuka-Long-Evans-Tokushima Fatty (OLETF) ラットを用いた低酸素負荷実験において以下の結果および結論を得ている。</p> <p>糖尿病ラットへの低酸素負荷は、右室圧上昇など心行動態を悪化させ、心筋細胞のミトコンドリアを主とする心筋障害を増悪させ、心筋での HIF-1α、VEGF、ET-1 などの発現を増強するという知見を得ている。また、これらが ARB 投与により抑制されることを明らかにしている。本研究は糖尿病における低酸素負荷が心臓に与える影響、およびこれに対する ARB の心保護効果を明らかにしたもので、糖尿病患者において睡眠時無呼吸症候群が心血管事故の危険因子となる機序やその予防を検討する上で有用と考えられる。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第 9 条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Circulation Journal 70 (6): 787-792, 2006</p>			