

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
岸 勘太	主査 教授 宮 崎 瑞 夫 主査 教授 玉 井 浩 副査 教授 北 浦 泰 副査 教授 勝 間 田 敬 弘 副査 教授 林 秀 行
主論文題名 Role of Chymase-Dependent Angiotensin II Formation in Monocrotaline-Induced Pulmonary Hypertensive Rats (モノクロタリン誘発肺高血圧ラットにおけるキマーゼ依存性アンジオテンシンⅡ産生の役割)	
学位論文内容の要旨	
<p>《目 的》</p> <p>肥満細胞由来のキマーゼは、アンジオテンシン(A)Ⅱ産生を介して多様な血管病変に関与することが知られている。ラット肥満細胞由来キマーゼは、AⅡを産生しないとされてきたが、近年、血管平滑筋培養細胞からクローニングされたラット血管キマーゼ(RVCH)がAⅡを産生し、モノクロタリン誘発肺高血圧ラットの肺動脈平滑筋にRVCHの発現が亢進していることが報告された。しかし、このRVCHを介したAⅡ産生のモノクロタリン誘発肺高血圧進展への関与の有無については不明である。</p> <p>本研究では、モノクロタリン誘導性肺高血圧でのRVCHの動態を検討し、さらに、AⅡ受容体拮抗薬(ARB)の投与により、キマーゼ依存性AⅡの役割を検討した。</p> <p>《方 法》</p> <p>本研究には6週齢(雄性)のS-Dラットを用いた。モノクロタリン(MCT)60mg/kgを単回皮下投与した(MCT群 n=8)。コントロール群(n=6)には同量の生理食塩水を皮下投与した。MCT投与4週間後に麻酔下で心臓超音波検査を施行し、肺動脈血流加速時間(AcT)と右室Tei indexを測定した。次に麻酔下で体血圧と肺動脈圧を測定した。その後、心臓と肺を取り出し、肺はキマーゼ活性・アンジオテンシン変換酵素(ACE)活性・AⅡ産生能・組織AⅡ量・RVCH mRNA・ACE mRNAの測定に用い、心臓は右室・左室・中隔の重量を測定し、右室肥大の指標として、右室/左室+中隔の重量比を計算した。さらにvan Gieson染色にて肺血管の中膜肥厚を定量化(%MWT)した。ACE活性及びキマーゼ活性は肺組織抽出液を用い、合成基質 hippuryl-His-Leu 及び Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-4-methylcoumaryl-7-amideをそれぞれ基質に測定した。また、AⅡ産生能はAIを基質としてAⅡ産生能を測定した。なお、各阻害薬の効果を検討するためACE阻害薬及びキマーゼ阻害薬を使用した。組織AⅡ量はELISA法にて測定した。mRNAの測定は、RT-PCR法により定量した。</p> <p>次に、モノクロタリン誘発肺高血圧ラットにおける、ARBの効果を検討するため、モノクロタリン投与2週間後から、カンデサルタン(10mg/kg/day)を2週間経口投与した(ARB群 n=10)。プラセボ群(n=10)には同量の生理食塩水を経口投与した。両群とも、MCT投与4週後に心臓超音波検査・圧測定・組織学的検討を施行した。</p>	

《結 果》

MCT 投与4週後に施行した心臓超音波検査では、AcT は MCT 群で有意に短縮していた。右室 Tei index は MCT 群で高値を示し、右心室の心機能低下が認められた。体血圧は両群に差は無いが、肺動脈圧が MCT 群で $49 \pm 2.96 \text{ mmHg}$ とコントロール群 ($23 \pm 0.86 \text{ mmHg}$) に比し有意に上昇し、それに伴い、右室肥大も認めた。組織学的検討では、MCT 群で中膜肥厚を認め、%MWT は MCT 群で有意に高かった。

肺組織の ACE 活性は、MCT 群で有意に低下しており ($36.2 \pm 6.8 \text{ mU/mg protein}$ vs $11.5 \pm 1.0 \text{ mU/mg protein}$)、それに対しキマーゼ活性は MCT 群で有意に上昇していた ($19.0 \pm 8.2 \text{ mU/mg protein}$ vs $314.0 \pm 40.1 \text{ mU/mg protein}$)。組織 AII 量も MCT 群の肺で有意に上昇していた。AII 産生能は、MCT 群で有意に上昇していた ($427.0 \pm 74.4 \text{ mU/mg protein}$ vs $1117.5 \pm 68.6 \text{ mU/mg protein}$)。この AII 産生能は、ACE 阻害薬によりコントロール群で 96.6% 抑制されたが、MCT 群では 4.7% のみの抑制であった。一方、キマーゼ阻害薬は MCT 群を 95.1% 抑制したが、コントロール群に対してはわずかに 3.3% の抑制であった。肺組織の RVCH mRNA の発現はコントロール群に比して、MCT 群で明らかに上昇していたが、ACE mRNA の発現は MCT 群で低下していた。

ARB の投薬により AcT の延長と右室 Tei index の改善を認めた。肺動脈圧も ARB により有意な低下を認め、右室肥大も抑制されていた。組織学的検討では、ARB による中膜肥厚の抑制が観察された。

《考察》

心臓超音波検査は肺高血圧の病勢の評価によく使用される。本研究においても、肺動脈圧と逆相関するとされる AcT と、収縮能、及び拡張能を合わせた心機能の指標である Tei index を測定した。その結果、MCT 群では AcT の低下と、右室 Tei index の高値を認め、肺高血圧に伴う、右心室機能低下を確認できた。また、MCT 群で肺動脈の中膜肥厚と右室肥大を認め、肺血管リモデリングによる肺高血圧を来し、右室肥大、さらには右室機能低下を招く事が確認された。

本研究において、MCT 群の肺組織で RVCH mRNA の発現が有意に上昇していた。また、MCT 群の肺では ACE 活性は有意に低下していたが、キマーゼ活性は有意に上昇していた。さらに、AII 産生能と組織 AII 量も MCT 群の肺で有意に上昇していた。肺の AII 産生能はコントロール群では ACE 阻害薬によりほぼ完全に抑制されるのに対して、MCT 群ではキマーゼ阻害薬でほぼ完全に抑制された。以上より、MCT 誘導性肺高血圧においては、ACE ではなくキマーゼによる AII 産生が病態に寄与していると思われる。また、ARB の投与で肺動脈中膜肥厚と肺高血圧の進展が抑制されたことより、RVCH により産生される AII が、血管リモデリングを介して肺高血圧に関与することを示した。

ヒトの肺高血圧症において、キマーゼ陽性肥満細胞が血管病変部位で増加しているという報告や、キマーゼ陽性肥満細胞数と肺血管抵抗が相関するという報告がある。ヒトキマーゼが AII を産生することは良く知られており、ヒトにおいてもキマーゼが産生する AII が肺高血圧症における血管リモデリングに関与する可能性が高い。

MCT 誘導性肺高血圧ラットに ARB であるロサルタンを投与し、肺動脈進展の抑制には効果が無かったとする報告があるが、本研究では、同じく ARB であるカンデサルタンの投与により、肺高血圧の進展が抑制された。この差は、potency の違いによるものと思われる。

ラットモノクローリン誘導性肺高血圧の病態には RVCH 依存性の AII が関与することが確認された。血管リモデリングにおける AII の産生には、肥満細胞だけでなく血管平滑筋細胞由来のキマーゼ依存性 AII が関与する可能性を明らかにした。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	岸 勘太
論文審査担当者		主 査 教授 宮 崎 瑞 夫 主 査 教授 玉 井 浩 副 査 教授 北 浦 泰 副 査 教授 勝 間 田 敬 弘 副 査 教授 林 秀 行	
主論文題名 Role of Chymase-Dependent Angiotensin II Formation in Monocrotaline-Induced Pulmonary Hypertensive Rats (モノクロタリン誘発肺高血圧ラットにおけるキマーゼ依存性アンジオテンシン II 産生の役割)			
論文審査結果の要旨			
<p>本研究は、モノクロタリン(MCT)誘発肺高血圧ラットにおけるラット血管キマーゼ(RVCH)依存性アンジオテンシン(A)II産生の関与について検討したものである。</p> <p>申請者は、6週齢(雄性)S-DラットにMCTを投与し、肺高血圧症を発症させ、その肺組織を用いて、キマーゼ活性、アンジオテンシン変換酵素(ACE)活性、AII産生能とそれに対するキマーゼ阻害薬及びACE阻害薬の影響の検討と肺組織のRVCH mRNAの発現を検討している。さらに、MCT誘発肺高血圧ラットに対して、アンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)の投薬を行い、in vivoにおける効果を検討している。</p> <p>MCT誘発肺高血圧ラットの肺組織では、ACE活性が低下していたのに対して、キマーゼ活性およびAII産生能が上昇しており、AII産生能の上昇は、ACE阻害薬ではなくキマーゼ阻害薬によりほぼ完全に抑制された。また、RVCH mRNAの発現もMCT誘発肺高血圧ラットの肺組織で亢進していた。さらに、ARBの投薬により肺高血圧の進展が抑制された。以上の結果より、RVCH由来のAIIがMCT誘発肺高血圧の病態に関与していることを確認している。</p> <p>ラットにおいてAII産生可能な平滑筋細胞由来のRVCHの存在が報告されていたが、in vivoにおける機能的役割は不明であった。本研究は、RVCH由来のAIIがモノクロタリン誘導性肺高血圧の病態に関係していることを示し、in vivoでのRVCHの役割をはじめ確認したものである。この事実は、肺高血圧の病態におけるAIIの重要性を示したものであると共に、従来の肥満細胞由来のキマーゼに加えて、平滑筋細胞由来キマーゼの役割を新たに加えたものである。</p> <p>以上より、本論文は本学大学院学則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) PEDIATRIC RESEARCH 60: 77-82, 2006</p>			