

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
井上奈緒	主査 教授 朝日 通雄
	主査 教授 玉井 浩
	副査 教授 勝間田 敬弘
	副査 教授 北浦 泰
	副査 教授 花房 俊昭
主論文題名 Effects of chymase inhibitor on angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm development in apolipoprotein E-deficient mice (アポリポプロテイン E 欠損マウスを用いたアンジオテンシン II 誘導性大動脈瘤モデルにおけるキマーゼ阻害薬の効果)	
学位論文内容の要旨	
<p>《研究目的》</p> <p>腹部大動脈瘤は動脈硬化に関連した慢性炎症で、組織学的には弾性線維の破壊、血管平滑筋細胞の脱落、慢性炎症性細胞の浸潤が特徴である。4.5cm を超えると破裂リスクが高まり、破裂した場合の死亡率は高い。現在のところ大動脈瘤の瘤化や進展を直接抑制する有効な薬物はなく、病態機序の解明も不十分である。イヌを用いたエラスターゼ誘導性大動脈瘤モデルでは、その発症と進展にキマーゼとマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-9 の関与が示唆されている。アポリポプロテイン E(アポ E)欠損マウスは、高脂血症ならびに動脈硬化を来すモデルであるが、これにアンジオテンシン II(Ang II)を持続投与するとヒト大動脈瘤に近いモデルが形成され、現在、ヒトの大動脈瘤の病態解明に広く使用されている。今回、申請者は、アポ E 欠損マウスを用いた Ang II 誘導性大動脈瘤の発症におけるキマーゼと MMP-9 の関与とキマーゼ阻害薬による大動脈瘤発症に対する効果を検討した。</p> <p>《方法》</p> <p>16 週齢の雄性アポ E 欠損マウスに浸透圧ポンプを用い、Ang II を 1,000 ng/kg/min で皮下より 4 週間持続投与した。対照群(n=16)には生食水を 4 週間同様に投与した。Ang II 投与群(n=32)は半数に分け、片群にはキマーゼ阻害薬(NK3201, 30 mg/kg/day)を Ang II 投与と同時に経口投与を開始した。血圧は、Ang II の投与開始の前々 1 週間に Tail cuff 法にて測定した。4 週間後、血漿中総コレステロール値の測定のために採血を行い、その後大動脈の起始部から総腸骨動脈分岐部までを剥離して全大動脈を採取した。各群の半数は酵素活性測定用に -80℃ で保存し、残りの半数は組織学的検討のためにカルノア液で固定し、パラフィン包埋した。大動脈拡大の程度は、Elastica von Gieson で染色した大動脈切片で定量した内腔面積にて評価した。炎症細胞浸潤の程度は、抗マクロファージ抗体(MOMA-2)で免疫染色し、その陽性領域面積/全血管面積の比で評価した。凍結保存した組織の抽出液を用いて酵素活性を測定した。キマーゼ活性は合成基質を用いて測定し、MMP 活性はゼラチン・ザイモグラフィにて測定した。in vitro における組織抽出液中の proMMP-9 の活性化に対するキマーゼ阻害薬の影響は、Ang II 投与群の組織抽出液にキマーゼ阻害薬を添加し、37℃ で 24 時間インキュベートして評価した。</p>	

《結果》

Ang II 投与群では血圧が有意に上昇したが、NK3201 投与群はこの血圧上昇には影響しなかった。血中の総コレステロール値は、各群間で有意差を認めなかった。Ang II を投与したマウス全例で腎動脈分岐部直上に大動脈瘤を認めた。しかし、NK3201 投与群では大動脈瘤が軽度であった。内腔面積は、Ang II 投与群が正常群より有意に増加したが、NK3201 投与群は Ang II 投与群より有意に減少した。マクロファージは Ang II 投与群の血管外膜で著明に浸潤していたが、NK3201 投与群では有意に減少していた。proMMP-9 および MMP-9 活性は、Ang II 投与群で対照群より有意に上昇したが、NK3201 投与群では有意に抑制された。組織抽出液を 37°C で 24 時間インキュベートすると proMMP-9 は、活性体である MMP-9 にほぼすべて変換されたが、キマーゼ阻害薬はその変換を阻害した。

《考察》

キマーゼ阻害薬である NK3201 は、アポ E 欠損マウスの Ang II 誘導性大動脈瘤の発症を有意に抑制した。ヒト大動脈瘤組織では MMP-9 活性の上昇が確認されており、MMP-9 の活性化を介した細胞外マトリックスの分解と大動脈瘤の発症および進展の関連が示唆されている。今回、アポ E 欠損マウスの Ang II 誘導性大動脈瘤でも MMP-9 活性の上昇が確認され、キマーゼ阻害薬はその MMP-9 活性の上昇を抑制した。以前の報告では、このモデルの大動脈瘤が MMP 阻害薬にて抑制された。ヒトの大動脈瘤組織中の proMMP-9 から MMP-9 への変換は、キマーゼ阻害薬で抑制される。今回、Ang II 投与群の組織抽出液中の proMMP-9 の活性化もキマーゼ阻害薬にて有意に抑制された。これらのことより、キマーゼ阻害薬は MMP-9 活性を阻害して大動脈瘤の発症を抑制したと考えられる。

動脈瘤組織での proMMP-9 の主な発現細胞はマクロファージであることより、キマーゼ阻害薬による proMMP-9 の抑制機序はマクロファージの集積抑制が関与したと考えられる。

キマーゼは組織 Ang II 産生酵素として知られているが、キマーゼ阻害薬が Ang II 投与下においても大動脈瘤発症を抑制できることを示した最初の報告である。キマーゼ阻害薬が腹部大動脈瘤の治療薬として発展していくことが期待される。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	井上 奈 緒
論文審査担当者		主 査 教 授 朝 日 通 雄	
		主 査 教 授 玉 井 浩	
		副 査 教 授 勝 間 田 敬 弘	
		副 査 教 授 北 浦 泰	
		副 査 教 授 花 房 俊 昭	
主論文題名			
<p>Effects of chymase inhibitor on angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm development in apolipoprotein E-deficient mice (アポリポプロテイン E 欠損マウスを用いたアンジオテンシン II 誘導性大動脈瘤モデルにおけるキマーゼ阻害薬の効果)</p>			
論文審査結果の要旨			
<p>腹部大動脈瘤の病態について詳細は明らかではない。近年、腹部大動脈瘤に対するアンジオテンシン II(AngII)、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の関与が注目されている。また、組織 AngII 産生酵素であるキマーゼが AngII 産生のみならず MMP の活性化を介して、腹部大動脈瘤の成因に関わっていることを示唆する報告がある。本研究では、アポリポプロテイン E(アポ E)欠損マウスを用いた大動脈瘤モデルにおいて、キマーゼと MMP-9 の関与の有無、さらにキマーゼ阻害薬である NK3201 の大動脈瘤に対する抑制効果を検討している。</p> <p>大動脈瘤モデルは雄性アポ E 欠損マウスに Ang II を持続投与することにより作製し、対照群、AngII 投与群、AngII+NK3201 投与群の 3 群を比較検討している。</p> <p>その結果、AngII 投与群では腹部大動脈瘤を形成したが、その程度は AngII+NK3201 投与群で有意に抑制された。病変部のマクロファージ浸潤は AngII 投与群で著明に増加したが、AngII+NK3201 投与群では有意に抑制された。proMMP-9 および MMP-9 活性は、Ang II 投与群で対照群より有意に上昇したが、AngII+NK3201 投与群では有意に抑制された。組織抽出液を 37℃ で 24 時間インキュベートすると proMMP-9 は、活性体である MMP-9 にほぼすべて変換されたが、キマーゼ阻害薬はその変換を有意に阻害した。</p> <p>以上より、キマーゼ阻害薬である NK3201 は、アポ E 欠損マウスの Ang II 誘導性大動脈瘤の発症を有意に抑制し、その機序を MMP-9 の活性化抑制と炎症抑制と結論づけている。キマーゼは組織 Ang II 産生酵素として知られているが、本研究はキマーゼ阻害薬が Ang II 投与下においても大動脈瘤発症を抑制できることを示した最初の報告である。キマーゼ阻害薬が腹部大動脈瘤の治療薬として発展していくことが期待される。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第 11 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) Atherosclerosis (): - , 2008 In press</p>			