

## 学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
羽森 貫	主査 教授 北 浦 泰 副査 教授 朝 日 通 雄 副査 教授 浮 村 聡 副査 教授 近 藤 敬 一 郎
主論文題名 モノクロタリン誘発肺高血圧ラットに対するエプレレノンの効果 (Effect of eplerenone on monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rat)	
学位論文内容の要旨	
<p>           ≪研究目的≫            肺動脈性肺高血圧症の治療にはサイクリック GMP やサイクリック AMP を増強する血管拡張療法が臨床使用されているが、本態である肺動脈リモデリングを修飾する治療の報告は乏しい。近年、血管リモデリングは体血管の硬化性病変において、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系(RAAS)が主要因の一つとされ、なかでもアルドステロンは血管局所に炎症を惹起し、血管収縮、内皮障害、平滑筋肥厚、細胞外マトリックスの増生を引き起こすとされる。一方、アルドステロンによる血管病変と、肺動脈リモデリングは病理学的に同様の形成過程であることから、肺動脈壁への血行力学的負荷により産生された局所アルドステロンが肺動脈病変を形成するという仮説は妥当である。そこで、モノクロタリン(MCT)誘発肺高血圧ラットに対し、選択的ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬であるエプレレノン(EPL)の効果を血行動態的、組織学的、分子生物学的に検討した。         </p> <p>           ≪対象と方法≫            7 週齢雄性 S-D ラット(体重 220~250g)に MCT60mg/kg を単回皮下注射した。比較         </p>	

対象として同週齢ラットに同量の生理食塩水を皮下注射した(Sham 群 N=8)。MCT 投与の翌日から 10 週齢(投与後 3 週)まで、毎日 EPL100mg/kg を経口投与する群(EPL 群 N=6)と水道水を経口投与する群(Vehicle 群 N=8)に分けた。MCT 投与後から毎週心臓超音波検査を行い、両心室の形態および心機能を評価した。右室流出路血流波形で加速時間(AT)と右室駆出時間(RVET)を計測した。組織ドップラー法で両心室の Tei index を計測した。投与後 3 週で、心臓カテーテル検査により両心室の収縮期圧と拡張末期圧を測定した。その後、右室と左室 + 中隔壁の重量測定を行った。肺は Elastica-van Gieson 染色で肺動脈中膜肥厚(MWT%)と細動脈筋性化%を定量化した。両心室は Masson's trichrome 染色で心筋細胞横断面積と間質線維化%を定量化した。RT-PCR 法で肺と両心室のミネラルコルチコイド受容体(MR)、アンジオテンシン II タイプ 1a 受容体(AT1aR)、トランスフォーミング成長因子(TGF)- $\beta$ 1 の mRNA の発現を定量化した。統計解析はデータを平均値 $\pm$ 標準偏差で示し、分散分析による多重比較を行った。統計学的に  $p < 0.05$  を有意とした。

#### 《結 果》

投与後 3 週の心臓超音波検査では、Vehicle 群で心室中隔の扁平化を認めた。右室短縮率は EPL 群で Vehicle 群と比べて有意に高かった。左室駆出率は有意差を認めなかった。AT/RVET は EPL 群で Vehicle 群と比べて有意に高かった。両心室の Tei index は EPL 群で Vehicle 群と比べて有意に低かった。

右室収縮期圧は EPL 群で Vehicle 群と比べて有意に低かった(Sham 群  $25.2 \pm 4.3$  mmHg, EPL 群  $37.3 \pm 3.9$  mmHg, Vehicle 群  $60.2 \pm 4.7$  mmHg,  $p < 0.01$ )。左室収縮期圧は有意差を認めなかった。右室拡張末期圧は EPL 群および Vehicle 群で Sham 群と比べて有意に高かった(Sham 群  $5.0 \pm 0.8$  mmHg, EPL 群  $11.3 \pm 1.4$  mmHg, Vehicle 群  $12.6 \pm 2.3$  mmHg,  $p < 0.01$ )。左室拡張末期圧は EPL 群で Vehicle 群と比べて有意に低かった(Sham 群  $16.5 \pm 1.5$  mmHg, EPL 群  $19.5 \pm 1.0$  mmHg, Vehicle 群  $22.4 \pm 0.4$  mmHg,  $p < 0.01$ )。右室/左室重量比は EPL 群で Vehicle 群と比べて有意

に低かった。

肺動脈 MWT%と細動脈筋性化%および両心室の心筋細胞横断面積と間質繊維化%は EPL 群で Vehicle 群と比べて有意に低かった。

肺および両心室の MR, AT1aR, TGF-β1 の mRNA は EPL 群で Vehicle 群と比べて有意に低かった。

#### 《 考 察 》

心臓超音波検査と心臓カテーテル検査は肺高血圧の重症度評価に有用である。肺動脈圧と逆相関する AT/RVET は EPL 群で Vehicle 群と比べて有意に高く、右室収縮期圧は EPL 群で Vehicle 群と比べて有意に低下したことから、EPL は肺高血圧の発症を抑制することが示唆された。収縮能と拡張能を合わせた心機能の指標である Tei index は EPL 群で Vehicle 群と比べて有意に低く、また左室駆出率は各群で保たれ、左室拡張末期圧は EPL 群で Vehicle 群と比べて有意に低下したことから、EPL は左室拡張能低下を抑制することが考えられた。

MWT%と細動脈筋性化%および心筋細胞横断面積と間質線維化%の結果から、EPL は肺動脈および心筋のリモデリングを抑制することが示唆された。

心血管リモデリングにおいて、局所アルドステロン-MR とアンジオテンシン II -AT1R はクロストーク作用を有するとされ、局所 RAAS 亢進に伴い TGF-β シグナルが活性化されるという報告がある。EPL により TGF-β1 の mRNA の発現が抑制されたことから、EPL は肺および心臓の心血管リモデリングを抑制したと考えられた。また EPL により、MR, AT1aR の mRNA の発現が抑制されたことから、EPL の RAAS への関与が示唆された。

#### 《 結 語 》

エプレレノンとはモノクロタリン誘発肺高血圧ラットにおいて、心血管リモデリングを抑制し、肺高血圧の発症を抑制することが示唆された。

## 審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲第号	氏名	羽森貫
論文審査担当者		主査教授 北浦 泰	
		副査教授 朝日 通雄	
		副査教授 浮村 聡	
		副査教授 近藤 敬一郎	
主論文題名			
モノクロタリン誘発肺高血圧ラットに対するエプレレノンの投与効果 (Effect of eplerenone on monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rat)			
論文審査結果の要旨			
<p>本研究は、モノクロタリンにより惹起されるラット肺高血圧に対し、選択的ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬であるエプレレノン(EPL)の投与効果を検討したものである。この肺高血圧モデルは肺動脈炎とこれに続く、細胞外マトリックス増生や平滑筋細胞の肥大と増殖によるとされ、動物モデルとして既に確立されている。</p> <p>申請者は、モノクロタリン誘発肺高血圧ラットを作製し、Sham群、EPL群、Vehicle群に分けて検討している。EPLの投与により肺高血圧、心室肥大、心機能低下が抑制されることを心臓超音波検査および心臓カテーテル検査を用いて示した。また、EPLは肺動脈中膜肥厚(MWT%)と細動脈筋性化%および両心室の心筋細胞横断面積と間質線維化%を抑制することから、肺動脈および心筋のリモデリングを抑制することを組織学的検討により示した。EPLにより TGF-<math>\beta</math>1 の mRNA の発現が抑制されたことから、EPLは肺および心臓の心血管リモデリングを抑制することを示した。また EPLにより、MR, AT1aR の mRNA の発現が抑制されたことから、EPLの RAAS への関与を示した。</p>			

本研究はモノクロタリン誘発肺高血圧ラットに対する EPL の発症抑制効果を示すものであり、肺高血圧症の治療における意義は大きいと考えられる。

(主論文公表誌)

大阪医科大学雑誌 69(1): 2010, 印刷中