Osaka University Knowledge Archive

Title	Insulin-mediated growth in aortic smooth muscle and the vascular renin-angiotensin system
Author(s)	神出, 計
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42893
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【84】

氏　　名	神出　計（かみで　けい）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　15799　号
学位授与年月日	平成12年12月11日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Insulin-mediated growth in aortic smooth muscle and the vascular renin-angiotensin system. （インスリンによる血管平滑筋増殖における血管細胞内レニン・アンジオテンシン系の役割）
論文審査委員	（主査） 教　授　荻原　俊男 （副査） 教　授　松澤　佑次　　教　授　三木　直正

論文内容の要旨

[目的]

インスリン抵抗性とそれに伴う高インスリン血症は、高血圧・高脂血症・糖尿病などの生活習慣病ならびにそれらを併せ持ち動脈硬化性心血管疾患を発症するマルチプル・リスクファクター症候群の主原因と考えられている。インスリン抵抗性は高血圧、高脂血症、糖尿病を導き、それぞれが動脈硬化発症の原因となり得るが、高濃度のインスリンは従来より血管平滑筋細胞増殖を促進することが報告されていたため、高インスリン状態が直接、動脈硬化発症に関与する可能性が考えられている。アンジオテンシンⅠ変換酵素阻害薬（ACEI）はインスリン抵抗性を改善することが知られているが、その機序は完全に解明されていない。このためインスリンの血管に対する作用とレニン・アンジオテンシン系との相互作用を明らかにすることはインスリン抵抗性を起因とするマルチプル・リスクファクター症候群の発症予防、治療法につながるものと考えられる。本論文においてインスリン刺激血管平滑筋細胞増殖における組織内レニン・アンジオテンシン系の役割を明らかにする。

[方法ならびに成績]

雄性 Sprague-Dawley rat（体重250-300g）より採取した大動脈血管平滑筋細胞（VSMC）を初代培養し、10%ウシ血清存在下で培養し、4から12継代を実験に使用した。P100培養皿においてコンフルエントとなった VSMC を24時間無血清とした後、インスリン刺激（ブタ由来速効性、10-1000 μU/ml）を48時間にわたって行い、その培養液を採取し、細胞からは Chomczynski らの方法を用いて total RNA を採取した。培養液中のアンジオテンシノーゲン濃度、レニン活性をラジオイムノアッセイにより測定し、アンジオテンシノーゲン、レニンならびにアンジオテンシンⅡタイプ1（AT_1）受容体の mRNA 発現をスロットブロットにより調べた。また12穴培養皿を用い同様の方法で VSMC 培養を行い、インスリンならびにアンジオテンシンⅡ（AngⅡ）による VSMC 増殖とこの増殖に対する ACEI や AT_1受容体拮抗薬の効果を4時間のパルスラベル^{3}H-チミジンの取込みにて検討した。

アンジオテンシノーゲン mRNA 発現はインスリン1000 μU/ml の刺激で約25倍増加したが、AT_1受容体 mRNA 発現はインスリン刺激にても変化なく、レニン mRNA はほとんど認められなかった。培養液中アンジオテンシノーゲン濃度はインスリン刺激100 μU/ml 以上から有意な増加を示した。レニンはその mRNA と同様、培養液中で測定感度以下であった。また100 μU/ml 以上のインスリン刺激で VSMC は有意な増殖を認め、インスリン1000 μU/ml は VSMC に対して AngⅡ 4 ×10^{-10}mol/l と同程度の増殖を示した。そこでインスリン1000 μU/ml と AmgⅡ 4 ×

10^{-10}mol/l による VSMC 増殖にカプトプリル（$10^{-7}-10^{-5}$mol/l）ならびにロサルタン（$10^{-9}-10^{-7}$mol/l）を投与すると10^{-6}mol/l 以上のカプトプリルと全濃度のロサルタンはインスリン刺激 VSMC 増殖を有意に抑制したが、Ang II 刺激 VSMC 増殖はカプトプリルでは抑制されず、ロサルタン10^{-8}mol/l以上でのみ抑制を認めた。

[総括]

高濃度のインスリン刺激（100μU/ml 以上）は VSMC 増殖を惹起し、このときアンジオテンシノーゲン産生を亢進させる。このインスリン刺激 VSMC 増殖は ACEI（カプトプリル）と AT_1受容体拮抗薬（ロサルタン）の両方で抑制されたことより、最終的にアンジオテンシンII産生を亢進させ、$A1T_1$受容体を介して働くものと考えられる。これは生体において筋肉や肝臓、脂肪組織で発症したインスリン抵抗性の結果生じる高インスリン血症が、冠状動脈、頚動脈や大動脈といった大血管に作用して動脈硬化発症を導くと考えられているが、本研究結果はその機序に関与していると考えられる。これより、ACEI や AT_1受容体拮抗薬がインスリン低抗性における動脈硬化発症を、降圧を介さず、直接的に抑える機序が存在することが示唆され、これらの薬が治療薬として有用である可能性が考えられた。また細動脈や毛細血管における動脈硬化はインスリン抵抗性発症の機序と考えられているが、本研究結果は ACEI がインスリン抵抗性を改善する機序解明につながるかもしれない。

論文審査の結果の要旨

本研究は高インスリン血症で起こると考えられるインスリン刺激血管平滑筋細胞増殖における組織内レニン・アンジオテンシン系の役割を検討した。

雄性 Sprague-Dawley rat より採取した大動脈血管平滑筋細胞（VSMC）にインスリン刺激（ブタ由来速効性、10-1000μU/ml）を48時間行った。VSMC 内アンジオテンシノーゲン mRNA 発現はインスリン1000μU/ml の刺激で約25倍増加したが、AT受容体 mRNA 発現はインスリン刺激にても変化なく、レニン mRNA はほとんど認められなかった。培養液中アンジオテンシノーゲン濃度はインスリン刺激100μU/ml 以上から有意な増加を示した。また100μU/ml 以上のインスリン刺激で VSMC は有意な増殖を認め、インスリン1000μU/ml は VSMC に対して Ang II 4×10^{-10}mol/l と同程度の増殖を示した。そこでインスリン1000μU/ml と Ang II 4×10^{-10}mol/l による VSMC 増殖にカプトプリル（$10^{-7}-10^{-5}$mol/l）ならびにロサルタン（$10^{-9}-10^{-7}$mol/l）を投与すると10^{-6}mol/l 以上のカプトプリルと全濃度のロサルタンはインスリン刺激 VSMC 増殖を有意に抑制したが、Ang II 刺激 VSMC 増殖はカプトプリルでは抑制されず、ロサルタン10^{-8}mol/l 以上でのみ抑制を認めた。

高濃度のインスリン刺激（100μU/ml 以上）はラット大動脈血管平滑筋細胞（VSMC）増殖を惹起し、このときアンジオテンシノーゲン産生を亢進させた。このインスリン刺激 VSMC 増殖は ACEI（カプトプリル）と AT_1受容体拮抗薬（ロサルタン）の両方で抑制されたことより、最終的にアンジオテンシンII産生を亢進させ、AT_1受容体を介して働くものと考えられる。これは生体において筋肉や肝臓、脂肪組織で発症したインスリン抵抗性の結果生じる高インスリン血症が、冠状動脈、頚動脈や大動脈といった大血管に作用して動脈硬化発症を導くと考えられているが、本研究結果はその機序に関与していると考えられる。これより、ACEI や AT_1受容体拮抗薬がインスリン抵抗性における動脈硬化発症を、降圧を介さず、直接的に抑える機序が存在するこ'とが示唆された点で、臨床的に有用であり学位の授与に値すると考えられた。