

Title	Calcium Channel Blocker, Azelnidipine, Enhances Vascular Protective Effects of AT1 Receptor Blocker, Olmesartan
Author(s)	神野, 豊久
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45255">https://hdl.handle.net/11094/45255</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	じん の とよ ひさ 神 野 豊 久
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 8 4 6 2 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Calcium Channel Blocker, Azelnidipine, Enhances Vascular Protective Effects of AT <sub>1</sub> Receptor Blocker, Olmesartan (カルシウムチャンネルブロッカー、アゼルニジピンは AT <sub>1</sub> 受容体ブロッカー、オルメサルタンの血管保護作用を増強する)
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男  (副査) 教授 堀 正二 教授 倉智 嘉久

#### 論 文 内 容 の 要 旨

目的：心血管病変発症に伴う心血管リモデリングの過程には、炎症反応や酸化ストレスの増大が関与しており、アンジオテンシンⅡ (AⅡ) の AT<sub>1</sub> 受容体を介したシグナルはこれら反応系の主要因子のひとつである。また、AT<sub>1</sub> 受容体を介したシグナルは、カルシウム (Ca<sup>2+</sup>) チャンネルから細胞内に Ca<sup>2+</sup> を流入させ、流入した Ca<sup>2+</sup> がセカンドメッセンジャーとして活性酸素産生系やその他のカイネースを刺激し細胞増殖に関係するとの報告がある。これらことから Ca<sup>2+</sup> チャンネル拮抗薬 (CCB) が AⅡのシグナルを抑える事が推測される。一方 CCB の分子生物学的レベルでの血管リモデリング改善機構についての詳細は知られていない。そこで、AT<sub>1</sub> 受容体が新生内膜増殖に関与していることが明らかなマウスの炎症性血管障害モデルを用い、CCB による分子生物レベルでの血管リモデリング改善作用機構、さらに ARB を併用することにより、血管リモデリング改善作用が増強される可能性について酸化ストレス、炎症を中心に検討した。

方法：雄性成人野生型 (C57BL/6J マウス) および AT1a 遺伝子欠損 (KO) マウスの大腿動脈にポリエチレンチューブをカフ状に留置し、炎症性血管傷害を誘発した。術後より血圧に影響を及ぼさない低用量の ARB (オルメサルタン; 0.5、1.0、3.0 mg/kg/day) と CCB (アゼルニジピン; 0.1、0.5、1.0 mg/kg/day)、ならびにオルメサルタン (0.5 mg/kg/day) +アゼルニジピン (0.1 mg/kg/day) を投与した。術後 7 日目において血管平滑筋への BrdU 取り込み指数 (BrdU index) を用いて DNA 合成能を検討し、細胞増殖のシグナル伝達の指標として ERK、STAT-1、STAT-3、炎症性マーカーとして MCP-1、TNF- $\alpha$ 、さらに酸化ストレスの指標として NADH/NADPH oxidase のサブユニットである P22<sup>phox</sup> と superoxide anion production を組織化学染色および Western blot にて検討した。術後 14 日目に傷害血管の形態学的測定から新生内膜形成の変化を算出した。

成績：カフ血管傷害により、BrdU 取り込み指数でみた血管平滑筋細胞の DNA 合成増加、炎症性マーカーとして用いた MCP-1 および TNF- $\alpha$  の発現増加、組織内 ERK・STAT-1・STAT-3 の活性化を伴った新生内膜形成が認められた。酸化ストレスの指標である superoxide anion 産生および p22<sup>phox</sup> も増強していた。このようなカフ血管傷害後の変化は AT1aKO マウスにおいて C57BL/6J マウスに比べ有意に低下しており、血管傷害後の新生内膜形成とそれに関わる酸化ストレス産生増加において AT1a 受容体の関与とその重要性が示された。またカフ血管傷害による変化は、血

圧に影響しない量のオルメサルタン ( $\leq 3.0$  mg/kg/day) あるいはアゼルニジピン ( $\leq 1.0$  mg/kg/day) を投与することにより、用量依存的に抑制された。アゼルニジピンは、もともと血管傷害後の変化が軽度であった AT1aKO マウスにおいても、さらにカフ血管傷害後の変化を抑制しており、AT1a 受容体と関係のない経路で血管リモデリングを改善していると考えられた。

それぞれ単独では抑制効果を示さない量のオルメサルタン (0.5 mg/kg/day) とアゼルニジピン (0.1 mg/kg/day) の併用投与群では、カフ留置後の傷害血管における新生内膜形成、血管平滑筋の DNA 合成、MCP-1 および TNF- $\alpha$  の発現、組織内 ERK・STAT-1・STAT-3 の活性化は有意に抑制された。このとき傷害血管における superoxide anion 産生、p22<sup>phox</sup> の発現増加も抑制された。また、DNA 合成能において、抑制効果のある量のオルメサルタン (1.0、3.0 mg/kg/day) に抑制効果のない量のアゼルニジピン (0.1 mg/kg/day) を併用投与すると、さらに有意な抑制効果が認められた。

総括：CCB と ARB はそれぞれ一部異なった経路で抗酸化、抗炎症、抗血管平滑筋増殖に働き、血管保護効果を持つことが示された。また、単独では効果を示さない投与量でも両薬剤を併用することにより、血管保護作用が増強される可能性が示され、臨床においてもこれら二種の降圧薬併用の有用性を示唆するものである。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、炎症性血管傷害による新生内膜形成に対する Ca 拮抗薬 (CCB) とアンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) の効果とその作用機序について検討したものである。雄性 AT1a 受容体欠損マウスとその野生型の大腿動脈にポリエチレンカフを留置して炎症性血管傷害を誘発した。傷害血管においては、血管平滑筋細胞の DNA 合成増加、MCP-1 と TNF- $\alpha$  の発現増加、組織内 ERK の活性化を伴った新生内膜形成を認め、酸化ストレスの指標である superoxide 産生、p22<sup>phox</sup> の発現の増加を認めた。CCB (アゼルニジピン 0.5、1.0 mg/kg/day) あるいは ARB (オルメサルタン 1.0、3.0 mg/kg/day) は非降圧量の範囲で用量依存性にこれらの変化を抑制した。AT1a 欠損マウスでは野生型に比べこれらの変化が軽減され、CCB は新生内膜形成をさらに 40%抑制した。また、それぞれ単独では影響のない量の CCB (アゼルニジピン 0.1 mg/kg/day) と ARB (オルメサルタン 0.5 mg/kg/day) の併用投与もカフ血管傷害後の変化を有意に抑制した。以上の結果は、CCB と ARB がそれぞれ一部異なった経路で抗酸化、抗炎症、抗血管平滑筋増殖に働き、血管保護効果を持つことを示す。また、両者の併用により血管保護の増強が期待できるとその機序を分子生物学的に初めて明らかになった。臨床的意義も高く学位の授与に値すると認める。