The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α Agonists Increase Nitric Oxide Synthase Expression in Vascular Endothelial Cells
Author(s)	合屋, 佳世子
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45319
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏　　名	合屋（桃田）佳世子（ごうや（ももだ）かよこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　18478　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 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α Agonists Increase Nitric Oxide Synthase Expression in Vascular Endothelial Cells （PPARα活性化剤は血管内皮細胞においてNOS発現を増加させる）
論文審査委員	（主査） 教　授　川瀬　一郎 （副査） 教　授　岡本　光弘　　教　授　下村伊一郎

論文内容の要旨

〔目的〕

フィブラート系薬剤は核受容体PPARαの活性化剤であり、その血清脂質改善作用は主に肝に発現するPPARαを介したものと考えられている。最近では、心血管系細胞におけるPPARαの発現とその作用についても注目が集まっており、炎症性サイトカイン・接着分子・エンドセリン-1などの発現を抑制することにより抗炎症的・抗動脈硬化的に作用することが示されている。一方、フィブラート系薬剤は内皮依存性血管拡張作用を有することも明らかにされたが、その分子機構については不明である。血管内皮由来のNOは生体において血管拡張作用を惹起する重要な因子である。そこで本研究では、PPARαの活性化がeNOS発現を促進するか否かについて、培養血管内皮細胞を用いた解析を行った。

〔方法ならびに成績〕

PPARα活性化剤であるフェノフィブレート（Feno）を用いてウシ大動脈由来内皮細胞（BAECs）におけるeNOS活性と発現に及ぼす効果について検討した。eNOS活性を、^{14}C-L-arginineから^{14}C-L-citrullineへの変換を指標として測定したところ、Fenoの48時間の処理により濃度依存性にeNOS活性の増加を認めた。この増加はFeno刺激後1時間以内には認められず、24時間以降に観察された。次に、eNOS蛋白発現量に及ぼすFenoの影響をウェスタンブロット分析により解析した。その結果、Fenoの48時間の処理によって濃度依存性にeNOS蛋白発現量の増加を認めた。このeNOS蛋白発現量の増加は別のPPARα活性化剤であるベザフィブレートにおいても認められたが、PPARγ活性化剤であるロシグリタゾンでは認められなかった。さらに、FenoによるeNOS蛋白発現量の増加はPPARαに拮抗作用を示すRU486により抑制された。次に、eNOS mRNA発現量に及ぼすFenoの影響をノーザンブロット分析により解析した。その結果、Fenoの24時間の処理により濃度依存性にeNOS mRNA発現量の増加を認めた。eNOSプロモーターを含むレポーター遺伝子をBAECsに導入し転写活性に及ぼす影響を検討したところ、FenoはeNOSプロモーター活性を増加させなかった。転写阻害剤であるアクチノマイシンDを添加したときのeNOS mRNAの半減期が、Fenoの処理により24時間から110時間に延長することが判明した。

〔総括〕

今回、培養血管内皮細胞を用いて、Feno が eNOS 活性を増加させること、そして eNOS 蛋白や eNOS mRNA の発現量を増加させることをはじめて明らかにした。eNOS 蛋白発現量の増加はベザフィブレートでも認められたが、ロシグリタゾンで認められなかったことから、この作用は PPARα を介したものと考えられた。Feno は eNOS 遺伝子のプロモーター活性を増加させなかった。eNOS 遺伝子の上流プロモーター領域（−1600/+22）には PPAR 応答配列（PPRE）と相同性のある配列は認められず、このことは本研究結果を支持するものである。一方、アクチノマイシン D 添加実験より、PPARα が eNOS mRNA を安定化させることが判明した。PPARα のこのような作用は、フィブラート系薬剤の血管拡張作用や動脈硬化抑制作用を説明する新しい知見である。

論文審査の結果の要旨

フィブラート系薬剤は核受容体 PPARα の活性化剤であり、脂質代謝改善作用だけでなく、動脈硬化進展抑止作用を有することも報告されている。このような作用は、主に肝臓に発現する PPARα を介したものであると考えられてきた。しかし最近では心血管系細胞においても PPARα の発現が報告されており、フィブラート系薬剤の血管に対する直接作用が注目されている。本研究では、フィブラート系薬剤が PPARα を介して血管内皮細胞における eNOS mRNA 発現量、eNOS 蛋白発現量、および eNOS 活性を増加させることをはじめて明らかにした。そして、この作用を説明する機序のひとつとして、eNOS mRNA の細胞内安定性増強の関与を示した。PPARα の eNOS 発現増加作用は、フィブラート系薬剤の血管拡張作用や動脈硬化抑制作用を説明する新しい知見であり、また核内レセプターによる mRNA の安定化を介する遺伝子発現制御機構の解明に有用な事象であり、学位の授与に値すると考えられる。