

Title	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor $\alpha$ 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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45319">https://hdl.handle.net/11094/45319</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	合屋(桃田)佳世子
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 $\alpha$ Agonists Increase Nitric Oxide Synthase Expression in Vascular Endothelial Cells (PPAR $\alpha$ 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 PPAR $\alpha$  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 PPAR $\alpha$  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 PPAR $\alpha$  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、PPAR $\alpha$  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〕

PPAR $\alpha$  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、 $^{14}\text{C}$ -L-arginine から  $^{14}\text{C}$ -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 PPAR $\alpha$  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、PPAR $\gamma$  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 PPAR $\alpha$  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 PPAR $\alpha$  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、PPAR $\alpha$  が eNOS mRNA を安定化させることが判明した。PPAR $\alpha$  のこのような作用は、フィブレ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

フィブレート系薬剤は核受容体 PPAR $\alpha$  の活性化剤であり、脂質代謝改善作用だけでなく、動脈硬化進展抑制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 PPAR $\alpha$  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 PPAR $\alpha$  の発現が報告されており、フィブレ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、フィブレート系薬剤が PPAR $\alpha$  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。PPAR $\alpha$  の eNOS 発現増加作用は、フィブレ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。