

Title	Timp-3 deficiency inhibits blood pressure elevation and myocardial microvascular remodeling induced by chronic administration of L-NAME in mice
Author(s)	樋口, 勝能
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47427
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">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

氏名	樋口 まさよし 能
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 20918 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 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	Timp-3 deficiency inhibits blood pressure elevation and myocardial microvascular remodeling induced by chronic administration of L-NAME in mice (Timp-3 欠損マウスにおいて、L-NAME 長期投与による血圧上昇と心筋微小血管リモデリングが抑制される)
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男 (副査) 教授 金田 安史 教授 下村伊一郎

論文内容の要旨

[目 的]

高血圧は心血管病の主要な危険因子として認識されており、本態性高血圧およびそれに伴う臓器障害の発症機構についての研究が近年重視されている。本態性高血圧の成因の一つとして加齢による血管抵抗の増大が考えられ、血管組織全体としての弾性の維持が高血圧の発症抑制には重要である。tissue inhibitor of metalloproteinase-3 (Timp-3) は、細胞外マトリックスの分解を抑制する内因性因子の一つであり、血管においても発現が認められている。

今回我々は、Timp-3 が血管壁の細胞外マトリックス分解を抑制することにより血管抵抗を増大させて高血圧を悪化させ、心血管リモデリングにも関与を及ぼしている、という仮説をたて、高血圧およびそれに伴う心筋血管リモデリングへの Timp-3 の関与について、N(ω)-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) 負荷マウスを用いて検討を行った。

[方法ならびに成績]

野生型及び Timp-3 欠損マウスのそれぞれを L-NAME 投与群と非投与群に分け、投与群に対して L-NAME を 3 mg/ml の濃度で飲水に溶解して経口投与を開始した。各群には 10 匹のマウスを使用した。以後、収縮期血圧を 2 週間毎に測定し、6 週後に心臓を摘出し、冠状動脈周囲の心筋組織の凍結切片を作成した。この間、マウスに明らかな病的兆候は認められなかった。

血圧測定は tail-cuff 法により無麻酔下に非侵襲的に行った。試験開始前の収縮期血圧は野生型、Timp-3 欠損マウスとも 110 mmHg 前後で有意差は認めず、L-NAME 非投与群については観察期間中に野生型群、Timp-3 欠損群両者とも有意な血圧上昇は認められなかった。一方、投与群では、野生型群で投与 2 週間後より 130-140 mmHg 程度の血圧上昇を認めたのに対して、Timp-3 欠損群では血圧上昇を認めず、両群間に有意差を認めた。

摘出した心臓はパラホルムアルデヒド固定の後に凍結し、冠状動脈の中膜肥厚を評価するためにヘマトキシリン・エオジン染色、壁周囲の線維化を評価するためマッソントリクローム染色を行った。得られた組織像を解析し、中膜

肥厚は中膜壁厚と血管内径との比で、血管周囲の線維化は線維化部分の面積と血管全体の面積の比で、それぞれ定量化した。その結果、冠状動脈の中膜肥厚及び線維化には、四群間に有意差は認められなかった。それに対し心筋微小血管においては、L-NAME 投与により中膜肥厚と血管周囲線維化は増大し、野生型で Timp-3 欠損群に比して有意な中膜肥厚と血管周囲線維化を認めた。

さらに、L-NAME 投与後の心筋微小血管からの酸化ストレス産生をジヒドロエチジウム (DHE) 染色で検出した。心筋の凍結切片を DHE とともに 37°C で 30 分間反応させ、蛍光顕微鏡で観察したところ、野生型でみられた酸化ストレス産生は Timp-3 欠損群では著明に抑制された。

[総 括]

以上の結果、Timp-3 が L-NAME 投与による血圧上昇、心血管リモデリング、及び心筋血管からの酸化ストレス産生において重要な役割を果たしていることが示された。Timp-3 欠損マウスにおいて血圧上昇は認められなかったが、Timp-3 同様に Matrix Metalloproteinase (MMP) 活性を抑制する plasminogen activator inhibitor-1 欠損マウスにおいても同様の結果が報告されていることから、MMP 活性の抑制が L-NAME による血圧上昇に関与していることが考えられる。その機序として、細胞外マトリックス分解の抑制による血管抵抗の増大が考えられる。また、L-NAME による血圧上昇にアンジオテンシン II による酸化ストレス産生が関与しているという報告があることから、Timp-3 がレニン・アンジオテンシン系を活性化して血圧を上昇させる、という機序も考えられる。Timp-3 欠損マウスの心筋微小血管からの酸化ストレス産生が野生型に比して低下していたという結果はレニン・アンジオテンシン系の関与により説明できる。

本研究により、Timp-3 が L-NAME による血圧上昇、心血管リモデリング、心筋血管からの酸化ストレス産生に関与することが明らかとなった。また Timp-3 機能の抑制が、高血圧、高血圧性臓器障害に対する新たな治療の標的となりうることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

昇圧物質である L-NAME を野生型マウスと細胞外基質の分解を抑制する因子 Tissue inhibitor of metalloproteinase-3 (Timp-3) の欠損マウスに 6 週間投与した結果、野生型マウスで誘導された高血圧及び心筋微小血管組織の病的変化が、Timp-3 欠損マウスではほとんど認められなかった。また L-NAME 投与後に野生型マウスで認められた心筋微小血管からの酸化ストレス産生は、Timp-3 が発現されないマウスでは著明に抑制されていた。

この論文は、Timp-3 が高血圧モデルマウスにおける血圧、血管組織の変化、及び心血管疾患と深い関わりのある血管からの酸化ストレス産生に深く関わっているという初めての報告である。この研究は Timp-3 が新たな高血圧治療の標的となりうることを示すものであり、学位論文に値する。