Osaka University Knowledge Archive

Title	An Angiotensin II Type 1 Receptor Blocker Can Preserve Endothelial Function and Attenuate Brain Ischemic Damage in Spontaneously Hypertensive Rats
Author(s)	大山, 直紀
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58145
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

【75】

氏　　名	大山直紀（おおやまなおき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２４３９７　号
学位授与年月日	平成23年３月25日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学　位　論　文　名	An Angiotensin II Type 1 Receptor Blocker Can Preserve Endothelial Function and Attenuate Brain Ischemic Damage in Spontaneously Hypertensive Rats （アンジオテンシンII受容体拮抗薬は、高血圧自然発症ラットにおける内皮機能を維持し、脳虚血障害を減弱する）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　武田　雅俊 （副査） 教　授　吉峰　俊樹　　教　授　楽木　宏実

論文内容の要旨

〔　目　　的　〕

血管内皮機能障害は動脈硬化の初期段階で起こると考えられており、しばしば血管内皮由来一酸化窒素（NO）のbioavailability低下として表されている。血管内皮細胞において、NOは内皮型一酸化窒素合成酵素（eNOS）を介して恒常的に産生されており、その産生量はeNOSの活性状態に大きく影響を受ける。とりわけeNOS-Ser^{1177}リン酸化はeNOSの活性化に極めて重要であり、脳血管においてもeNOS-Ser^{1177}リン酸化状態が脳血流や虚血性脳障害のアウトカムに影響を及ぼすことが知られている。一方、高血圧は内皮機能障害を介して脳血管障害を引き起こし、特に脳実質内の小血管に対する影響は大きい。本研究では、高血圧自然発症ラット（SHR）を用いて、高血圧が脳小血管におけるeNOS発現やeNOSを介した脳血管機能調節に与える影響を評価し、さらにそれらに対する降圧薬の効果を検討した。

〔　方法ならびに成績　〕

まず、ラット脳におけるeNOS発現の局在を評価するために、正常血圧ラット（Wistarラット）およびSHRの大脳皮質において、eNOSとvon Willebrand factor（vWF）を使って免疫染色（二重染色）を行った。eNOSのシグナルは血管内皮のマーカーであるvWFのシグナルに一致し、eNOSの発現はほぼ血管内皮に限局しているものと考えられた。

次に、ラット脳小血管において高血圧が内皮機能に与える影響を調べるために、5および10週齢のWistarラットとSHRの血圧をtail cuff法を用いて測定し、大脳皮質における総eNOS、リン酸化eNOS（Ser1177）の蛋白発現量をWestern blot法で半定量評価した。Wistarラットや5週齢SHRに比し、10週齢SHRでは明らかに血圧が高く、リン酸化eNOS/総eNOS比は有意に低下していた。さらに、降圧薬による正常血圧維持が内皮機能に与える影響を調べるために、SHRに対してvehicle、0.02%ヒドララジン、0.02%RNH-6270(オルメサルタン)を5週齢から10週齢まで経口投与し、同様に血圧およびeNOS蛋白発現量を評価した。降圧薬（ヒドララジン、オルメサルタン）を投与したSHRでは、血圧が正常レベルに維持され、脳皮質のリン酸化eNOS/総eNOS比はvehicle投与群に比べ有意に高値であったが、中でもオルメサルタン治療群はヒドララジン治療群に比し有意に高く、Wistarラットと同程度に保たれていた。

また、eNOS活性の程度が脳血流に与える影響を調べるために、Wistarラットおよび薬剤投与SHRの各群において、選択的eNOS阻害薬であるL-N^5-(1-iminoethyl)ornithine（L-NIO; 20mg/kg）を大腿静脈より投与し、レーザードプラを用いてL-NIOに対する脳皮質血流（CBF; cerebral blood flow)の反応性を評価した。CBFはL-NIO投与後5－10分で最も低値となり、投与5分後のCBF低下率はオルメサルタン治療群で13.4 ± 1.3%であり、vehicle群の低下率（7.2 ± 1.1%）より有意に大きく、Wistarラットの低下率（13.2 ± 1.8%）とほぼ同等であった。ヒドララジン治療群のCBF低下率は10.0 ± 1.3%でありvehicle群と有意差を認めなかった。

高血圧や降圧薬による正常血圧維持が虚血性脳障害に与える影響を調べるために、Wistarラット、薬剤投与SHRの各群において60分の一過性中大脳動脈閉塞を行い、虚血中のCBFを測定した。中大脳動脈閉塞中のCBFは閉塞前の12-30%まで低下したが、vehicle群において最も低値（12－15%）で推移し、ヒドララジン治療群（14－20%）もWistarラット（23－30%）に比し有意に低値であった。一方、オルメサルタン治療群（20－23%）はWistarラットと有意差を認めなかった。さらに、2日後の梗塞体積を2,3,5-triphenyltetrazolium chloride染色を用いて計測したところ、vehicle群(201.9 ± 23.0mm^3)はWistarラット（84.8 ± 17.9mm^3)に比し有意に大きく、オルメサルタン治療により有意に縮小化した（93.2 ± 17.5mm^3）が、ヒドララジン治療では有意な縮小効果は認められなかった(144.0 ± 19.4mm^3)。

〔　総　　括　〕

SHRでは血圧の上昇とともにeNOS機能が低下し、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬により血圧上昇を抑制することでeNOS機能は維持され、虚血性脳障害は減弱されることが示された。このことは、血圧上昇後比較的早い段階で脳小血管の内皮機能障害が引き起こされ、早期からの治療介入によりそれが抑制されることを示唆している。さらに、内皮機能を保持する効果を併せ持つ降圧薬が、虚血性脳障害を軽減する上でより効果的である可能性がある。

論文審査の結果の要旨

内皮型一酸化窒素合成酵素（eNOS）は脳血管の恒常性維持に重要であり、その機能低下は虚血性脳障害を増悪させる。一方、高血圧は虚血性脳障害のリスクであるが、高血圧の影響を受けやすい脳小血管において、血圧や降圧薬が内皮機能に与える影響については十分な知見がない。この関係を明らかにするために本研究を行った。

正常血圧ラット（Wistarラット）や血圧上昇前の高血圧自然発症ラット（SHR）に比べて、血圧上昇後のSHR大脳皮質ではeNOSリン酸化(Ser1177)が有意に減弱していた。さらに降圧薬（ヒドララジン、オルメサルタン）によりeNOSリン酸化が保持され、オルメサルタンの保持効果はヒドララジンより有意に高値であった。eNOS依存性脳血流反応性や虚血性脳障害においてSHRでは有意に増悪し、オルメサルタン治療でのみこれらの増悪が抑制されていた。本研究は、血圧上昇後早い段階で脳小血管内皮機能障害が起こり、早期の血管内皮保護効果を持つ降圧薬治療によりそれが抑制されることを示唆しており、虚血性脳障害を予防する上で最大の危険因子である高血圧の治療戦略において極めて有益な研究である。以上より、本研究は学位に値するものと認める。