

学位論文題名

A Newly Developed Angiotensin II Type 1 Receptor Antagonist, CS866, Promotes Regression of Cardiac Hypertrophy by Reducing Integrin β_1 Expression

(新規アンジオテンシン II 1 型受容体拮抗薬 CS866 は
インテグリン β_1 発現減少を介して心肥大を退縮する)

学位論文内容の要旨

I. 背 景

インテグリンは、 α 、 β ユニットを有する細胞表面受容体である。インテグリンは、細胞と細胞外マトリックスの接着を媒介する mediator として機能するだけでなく、オステオポンチンなどの arginine-glycine-aspartate (RGD) 配列と結合して、細胞外の刺激を細胞内信号伝達経路に伝えて活性化することが知られている。また、新生仔ラット心筋細胞伸展刺激によりインテグリン β_1 の発現が亢進すること、インテグリン β_1 の心筋細胞特異的遺伝子欠損マウスで、心筋線維化と心機能障害を発症することが報告されている。これらにより、インテグリンが、心筋細胞肥大と引き続くリモデリングの進展過程に重要な役割を担っている可能性が考えられる。

一方、アンジオテンシン II (AII) がインテグリンの発現を調節することが報告されている。In vitro の研究で、心筋線維芽細胞において AII 投与により、 β_1 、 β_3 、 β_5 、 α_v integrin や α -actinin の蛋白質レベルが増加し、このうち α_v 、 β_3 、 β_5 integrin と α -actinin の増加は AII タイプ 1 (AT₁) 受容体遮断薬 (ARB) により、抑制されることが報告されている。また、In vivo の研究においても、大動脈縮窄による圧負荷肥大心においてインテグリン β_1 、 α_1 、 α_5 の発現が亢進すること、脳卒中易発症高血圧自然発症ラット Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats (SHRSP) においてインテグリン α_v 、 β_5 、 α -actinin の発現が増加し ARB の投与により抑制されることが報告されている。AII は AT₁ 受容体を介して心肥大を起こすと考えられているので、インテグリンが mediator としてこのシグナル伝達過程に関与している可能性がある。しかし、インテグリンと AII の直接的な関係は不明である。

II. 目 的

本研究の目的は、SHRSP の心肥大進展過程におけるインテグリン β_1 及び AT₁ 受容体の意義を明らかにすることである。

III. 方 法

研究には、SHRSP 及びコントロールとして同週令の Wistar Kyoto ラット(WKY)を用いた。SHRSP は、を、プラセボ投与群、ACE 阻害薬投与群 (ACEI, temocapril; 10 mg/Kg/day)、AT₁ 受容体拮抗薬投与群 (ARB, CS-866; 10mg/Kg/day)、または ACEI 及び ARB 併用投与群

(Combination 3mg/Kg/day, each) の4群に分け、6週間の治療の後に、1、血圧測定 2、心重量比測定 3、HE染色標本による心筋細胞横径測定 4、免疫染色による心臓におけるインテグリン β_1 の発現解析 5、左室心筋より RNA を抽出し、半定量 RT-PCR 法を用いたインテグリン β_1 、AT₁ 受容体、及び atrial natriuretic factor (ANF) の mRNA 発現解析を行った。

IV. 結 果

1、WKY に比し、SHRSP では、著明な血圧の上昇を認めたが、ACEI 群、ARB 群及び Combination 群では、その血圧上昇が有意に、特に WKY と同程度まで抑制された。

2、一方、心体重比は、WKY と比べて、SHRSP では著明に増加し、各薬物投与群で有意に抑制される。しかも、同じレベルに維持されていたにも関わらず、ACEI 群に比し、ARB 群及び Combination 群では心体重比が有意に抑制された。

3、HE 染色による組織像では、SHRSP では、WKY よりも心筋細胞横径が著しく増加し、各薬剤投与により、有意に抑制された。また、心体重比と同様に、ACEI 群に比し、ARB 群及び Combination 群では心筋細胞横径が有意に抑制されていた。

4、免疫染色によるインテグリン β_1 の発現を検討したところ、WKY では、心筋細胞の介在板のみにインテグリン β_1 が発現していたが、SHRSP では、心筋細胞の介在板に加え心筋細胞の周囲にも発現していた。

5、インテグリン β_1 、AT₁ 受容体、及び心肥大マーカーとしての ANF の mRNA 発現量はいずれも、SHRSP では WKY よりも著明に増加しており、各薬剤投与により、増加が抑制された。また、ACEI 群に比し、ARB 群及び Combination 群では有意に、WKY と同程度まで抑制されていた。

6、AT₁ 受容体とインテグリン β_1 の mRNA の発現程度には正の相関関係を認めた。

V. 考 察

SHRSP は高血圧に伴う心肥大、心リモデリングの機序を検討するよい疾患モデルと考えられる。我々は今回、各薬剤を比較検討し、治療効果の相違を調べた。いずれの群も血圧は同程度まで低下したが、心体重比、心筋細胞横径などを指標にした心肥大の進展は ACEI 群と比較して、ARB 群及び Combination 群で有意に抑制された。また、インテグリン β_1 、AT₁ 受容体、及び ANF mRNA 発現の亢進も同様に ACEI 群と比較して、ARB 群及び Combination 群で有意に抑制された。ACEI 群と比較して ARB 群及び Combination 群でより有効であった機序としては、ARB 群及び Combination 群で、増加した血中 AII を介して AT₂ 受容体を刺激する可能性などが考えられる。

更に、今回の結果から、インテグリン β_1 と AT₁ 受容体の発現減少が心肥大の退縮に関与していることが示された。またインテグリン β_1 と AT₁ 受容体の mRNA 発現量に正の相関が見られることから、AII が AT₁ 受容体を介してインテグリン β_1 の発現を調節している可能性が示された。しかし、インテグリン β_1 と AT₁ 受容体の詳細な関係、及びそれらと心肥大との直接的な関係については不明であり、今後検討されるべき課題と考えられる。

VI. 結語

1、心肥大の心筋細胞におけるインテグリン β_1 の発現は、AII により AT₁ 受容体を介して調節されていることが示された。

2、新規 ARB である CS866 が、インテグリン β_1 及び AT₁ 受容体の発現の抑制を介して心筋肥大進展の抑制に有効である可能性が示された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 吉 岡 充 弘
副 査 教 授 安 田 慶 秀
副 査 教 授 北 畠 顕

学 位 論 文 題 名

A Newly Developed Angiotensin II Type 1 Receptor Antagonist, CS866, Promotes Regression of Cardiac Hypertrophy by Reducing Integrin β_1 Expression

(新規アンジオテンシン II 1 型受容体拮抗薬 CS866 は
インテグリン β_1 発現減少を介して心肥大を退縮する)

本研究は、脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP)の心肥大進展過程におけるインテグリン β_1 及び AT1 受容体の機能的関連と意義を明らかにすることを目的とした。6 週齢 SHRSP を、プラセボ投与群、ACE 阻害薬投与群(ACEI, temocapril; 10 mg/Kg/day)、AT1 受容体拮抗薬投与群(ARB, CS-866; 10mg/Kg/day)、または ACEI 及び ARB 併用投与群(Combination 3mg/Kg/day, each)の4群に分け、同週令の Wistar Kyoto ラット(WKY)と比較した。各群の投与量は予備試験にて、あらかじめ WKY と同程度の血圧が得られる用量を設定した。投与6週間後、血圧、心重量比、HE 染色標本による心筋細胞横径を測定、免疫染色による左室におけるインテグリン β_1 の発現、左室心筋より RNA を抽出後半定量 RT-PCR 法を用いたインテグリン β_1 、AT1 受容体、及び atrial natriuretic factor (ANF) の mRNA 発現解析を行った。その結果、心筋細胞におけるインテグリン β_1 発現は、AT1 受容体刺激を介して調節されていることが示された。また、新規 ARB である CS866 は、インテグリン β_1 及び AT1 受容体発現抑制を介して心筋肥大進展を抑制することが示唆された。

口頭発表後、安田慶秀教授から薬剤投与量の設定と併用療法の意義、当該研究の方向性について、吉岡教授から脳卒中易発症高血圧自然発症ラットにおける心肥大の特徴、インテグリンの臓器別発現の差異とその意義、インテグリンとアンジオテンシン II の機能的関連性、ことに、細胞内情報伝達機構についての質問がなされた。最後に、北畠教授からインテグリンのアイソフォームの中で β_1 を選択した理由、他の病態、ことに、動脈硬化における発現意義の違い、遺伝子改変動物における研究報告との比較、Val-HeFT 試験と CHARM 試験での結果の違いについて質問がなされた。申請者は、いずれの質問に対しても、自験例や従来への報告を引用し、概ね妥当な回答を行なった。

本論文は薬物による心肥大退縮効果について動物モデルを用いて検討したもので、その結果から、インテグリンは心肥大関連分子であることが示され、その関連薬物の臨床応用が期待される。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。