

氏 名	チヨン 全 泰 和
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2352 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Regulation of expression of endothelium-derived relaxing peptides, C-type natriuretic peptide and adrenomedullin by shear stress and oxidative stress (内皮由来血管拡張ペプチドであるC型ナトリウム利尿ペプチドおよびアドレノメジュリンのずり応力と酸化ストレスによる発現調節)
論文調査委員	(主 査) 教 授 篠 山 重 威 教 授 淀 井 淳 司 教 授 中 尾 一 和

論 文 内 容 の 要 旨

内皮細胞は自ら種々の血管作動性物質を分泌し、血管平滑筋のトーンスの調節、及び血管壁構造の維持に関わっている。近年、内皮細胞よりペプチド性血管作動性因子が次々と同定され、その意義が注目されている。ナトリウム利尿ペプチドファミリーに属するC型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)は内皮細胞から分泌され、サイクリックGMPの産生を介して血圧降下作用を示し、かつ血管平滑筋細胞の増殖を強力に抑制する。また、ヒト褐色細胞腫より単離同定されたアドレノメジュリン(AM)も内皮細胞から分泌され、サイクリックAMPの産生を通して血管弛緩を促す事が明らかになっている。本研究では内皮細胞におけるCNP及びAMの発現調節に対する、血管への生理的刺激であるずり応力(Shear Stress)の影響、及び高血圧症などに伴う血管障害の原因因子の一つと考えられている酸化ストレスの影響を検討した。

1) ずり応力によるC型ナトリウム利尿ペプチド及びアドレノメジュリンの発現調節

ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)、ウシ内頸動脈内皮細胞(BAEC)及びマウスリンパ節内皮細胞(MLEC)に対し、平行平板型流れ負荷装置により定量的ずり応力刺激を加えた。HUVECにおけるCNP mRNA発現は動脈において平均して認められるずり応力(15dyn/cm²)の負荷により負荷後4時間で6倍、24時間で30倍と時間依存性の発現増強を示した。BAECにおいては4時間後に2倍、24時間後に3倍、MLECにおいても4時間後に3倍、24時間後に10倍と同様の発現亢進を認めた。CNP mRNA発現は静脈で認められる低ずり応力(1.5, 3 dyn/cm²)によっては明らかな発現増強が認められなかったが、動脈で認められる高ずり応力(5, 15dyn/cm²)の負荷により負荷後6時間で各々2.5倍、4.5倍とずり応力強度に依存した発現増強を認めた。次に、CNP, AM, 及び内皮由来血管収縮因子エンドセリン-1(ET-1) mRNAに対するずり応力の影響を同一サンプルにおいて検討した。HUVECに対するずり応力15dyn/cm²の負荷によりAM mRNA発現はCNP mRNA発現と同様に増強し、負荷後24時間で3倍になった。一方、ET-1 mRNA発現は時間依存性に漸減した。AM mRNA発現も、CNP mRNA発現と同様にずり応力強度依存性の増強を示した。

2) 酸化ストレスによるC型ナトリウム利尿ペプチド及びアドレノメジュリンの発現調節

BAEC培養液中の、CNP濃度は、培養開始後48時間で $4.3 \pm 1.1 \text{ fmol}/10^5 \text{ cell}$ であったが、過酸化水素水(H₂O₂) 0.5mmol/Lの刺激により約9倍に増加した($36.2 \pm 1.5 \text{ fmol}/10^5 \text{ cell}$)。抗酸化剤N-acetyl cysteine(NAC) 10mmol/Lの同時添加によりH₂O₂の効果は有意に抑制された。CNP mRNAは1mmol/L H₂O₂添加1時間後から増強し、3時間後には10倍の発現増強を認めた。一方培養液中のAM濃度は培養開始後24時間で $9.4 \pm 0.5 \text{ fmol}/10^5 \text{ cell}$ であったが、0.5mmol/LのH₂O₂刺激により2倍に増加した($16.4 \pm 0.5 \text{ fmol}/10^5 \text{ cell}$)。その効果はNACの添加により阻害された。またAM mRNA発現も、H₂O₂の用量依存性に増強した。

以上、内皮細胞においてCNPとAMは、ずり応力および酸化ストレス双方により、その発現増強を受けることが明らかとなった。血圧調節および血管リモデリングにおける内皮由来血管弛緩ペプチドの発現制御の意義が示唆された。

論文審査の結果の要旨

内皮由来血管拡張ペプチドである C 型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) およびアドレノメジュリン (AM) は、各々サイクリック GMP およびサイクリック AMP の産生を通して血圧低下および増殖性血管病変の進展抑制に関わる。

本研究では、血管内皮細胞における CNP および AM の発現調節に対するずり応力 (Shear Stress) と、酸化ストレスの影響を検討した。

培養ヒト、ウシ、マウス血管内皮細胞において、CNP および AM は、ともに生理的ずり応力により、ずり応力の強度依存性に、また時間依存性にその遺伝子発現が増強し、分泌の亢進が認められた。また酸化ストレスのひとつである過酸化水素水の添加によって、CNP および AM 遺伝子発現の亢進が認められ、抗酸化剤 N-acetyl cystein によりその効果は阻害された。これらの結果から、血管内皮細胞において CNP および AM は、ずり応力および酸化ストレスの双方により、その発現増強をうけることが明らかとなった。

以上の研究は、血圧調節および血管リモデリングにおける内皮由来血管弛緩ペプチドの意義の解明に貢献し、高血圧症の成因およびその血管合併症の病態生理の研究に寄与するところが多い。

従って、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

尚、本学位授与申請者は、平成13年 2 月 7 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。