

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	萱森 裕美
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 862 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Amlodipine Inhibits Vascular Cell Senescence and Protects Against Atherogenesis Through the Mechanism Independent of Calcium Channel Blockade(アムロジピンは血管細胞の老化を抑制し、カルシウムチャネルの遮断作用とは異なる機構を介してアテローム形成を予防する。)
論文審査委員	主査 教授 土田 正則 副査 教授 神吉 智丈 副査 教授 南野 徹

博士論文の要旨

・背景と目的

ヒト正常体細胞の分裂寿命は有限であり、一定期間増殖した後、細胞老化とよばれる分裂停止状態となる。老化細胞は扁平や膨化といった形態変化を示すだけでなく、細胞増殖サイクルの抑制遺伝子である p53 や p21 および炎症性物質の発現や機能に変化を伴うことも知られている。

これまでにヒト動脈硬化巣の組織学的検討は広く行われ、動脈硬化巣には細胞老化の形態学的変化を伴う内皮細胞や血管平滑筋細胞の存在が示されている。

アムロジピンはアテローム形成抑制効果を有することが報告されている。しかしその分子機構については明確にされていない。アムロジピンは 2 つの光学異性体(S 異性体、R 異性体)よりなり、S 異性体は L 型チャネル遮断作用が強く、それに対して R 異性体はチャネル遮断作用が極めて弱く、その薬理学的効果は明確になっていない。

我々は、アムロジピンの細胞老化抑制やアテローム形成抑制作用の分子機構を解明することを目的とする。

・方法

マウスは Apolipoprotein E 欠損マウスを用い、6 週齢より 8 週間高脂肪食で飼育し、さらに同週齢より 8 週間アムロジピン(5mg/kg)またはその R-異性体(5mg/kg)を投与し下記のことを検討した。

- ① アムロジピンおよびその R-異性体の生理学的効果。
- ② アムロジピンおよびその R-異性体のアテローム形成における効果。
- ③ アムロジピンおよびその R-異性体の血管細胞老化における効果。
- ④ アムロジピンおよびその R-異性体の p53 活性における効果。

・結果

① 生理学的指標として血圧、食餌量および血清総コレステロール値を測定したが、いずれにおいてもアムロジピン群、R-異性体群および対照群で有意差を認めなかった。

② 8週間の高脂肪食および薬剤投与後に大動脈を摘出し、血管内膜を組織学的に評価すると、対照群で高度のアテローム形成を認め、アムロジピン群およびR-異性体群ではアテローム形成は抑制されていた。

③ 8週間の高脂肪食および薬剤投与後に大動脈を摘出し、その内膜および中膜の老化関連酸性β-ガラクトシダーゼ陽性細胞数を測定すると、対照群は30%以上の陽性細胞を認めたのに対して、アムロジピン群およびR-異性体群では有意差をもって陽性細胞数は減少していた。また大動脈でのp53の発現は、アムロジピン群およびR-異性体群で対照群に比し同程度に低下していた。次に炎症性サイトカインであるinterleukin-1βの大動脈での発現を検討すると、アムロジピン群およびR-異性体群で対照群に比し抑制されていた。

アムロジピン同様そのR異性体で細胞老化抑制作用が示され、カルシウムチャネル遮断作用とは別の機構の関与が考えられる。

④ 血管平滑筋細胞を用いてp53の遺伝子活性を検討すると、過酸化水素の作用でp53の遺伝子活性は上昇し、アムロジピンまたはR-異性体の投与でその遺伝子活性は同程度に低下を認めた。さらに一酸化窒素合成阻害薬であるN-nitro-L-aruginine methyl esterを作用させると、アムロジピンまたはR-異性体の投与においてもp53の遺伝子活性の抑制は相殺された。

アムロジピンの細胞老化抑制作用は酸化ストレスを低下させると同時に、一酸化窒素の産生を刺激することが関与している可能性が考えられる。

・考察と結論

多くの臨床試験によって、アムロジピンがアテローム形成を抑制し、心血管病の発症を抑制することが示されている。例えばCAMLOT試験では、アムロジピン群で心血管病の有害事象が減少し、アテローム形成が遅速であることが示されている。これらの臨床試験からは、アムロジピンにはカルシウムチャネル遮断作用とは別の機構が存在し、それらの結果に関与していることが推察される。

申請者らが示した結果は、アムロジピンおよびそのR-異性体は血圧や血清総コレステロール値に影響を及ぼすことなく、カルシウムチャネルを遮断する機構とは異なる機構を介して血管細胞老化を阻害し、アテローム形成を抑制することを示す。さらにアムロジピンのR異性体は一酸化窒素の合成を促進し、酸化ストレスを抑制することが示され、この作用により血圧降下作用以外のアムロジピンの効果をもたらされている可能性が考えられる。これまでにアムロジピンR異性体の一酸化窒素産生能は、アンジオテンシンII受容体拮抗薬により阻害されるとの報告もあり、R異性体の一酸化窒素産生能はアンジオテンシンII受容体を介した作用の可能性も考えられるが、その分子機構については明確になっていない。またアムロジピンは糖代謝に影響を及ぼし抗老化作用を及ぼしている可能性も考えられるが、現時点では明確になっていない。これらの機構の解明によって、アムロジピンが最も有益な効果を認める病態が明らかになることが期待できる。

審査結果の要旨

アムロジピンはカルシウム拮抗薬であり降圧剤として広く使用されているが、近年アテローム形成抑制効果を有することが報告されている。しかしその分子機構については明確にされていない。申請者は、Apolipoprotein E欠損マウスを用い、血圧に影響を及ぼさない投与量を設定し、アムロジピンまたはそのR-異性体を投与して、細胞老化抑制やアテローム形成抑制作用の分子機構を検討した。

血管内膜の組織学的評価では、対照群で高度のアテローム形成を認め、アムロジピン群およびR-異性体群ではアテローム形成は抑制されていた。

内膜および中膜の老化関連酸性β-ガラクトシダーゼ陽性細胞数を測定すると、対照群に対して、アムロジピン群およびR-異性体群では有意に陽性細胞数は減少していた。また大動脈でのp53の発現は、アムロジピン群およびR-異性体群で対照群に比し同程度に低下していた。interleukin-1βの大動脈での発現は、アムロジピン群およびR-異性体群で対照群に比し抑制されていた。

申請者らが示した結果は、アムロジピンおよびそのR-異性体は血圧や血清総コレステロール値に影響を及ぼすことなく、カルシウムチャンネルを遮断する機構とは異なる機構を介して血管細胞老化を阻害し、アテローム形成を抑制することを示している。

さらに、アムロジピンのR-異性体は一酸化窒素の合成を促進し、酸化ストレスを抑制することが示され、この作用により血圧降下作用以外のアムロジピンの効果もたらされている可能性が考えられる。アムロジピンのアテローム形成抑制効果とその分子機構を解明した点で、学位論文としての価値を認める。