

氏 名 (本 籍)	あさ の みち こ 浅 野 道 子 (千 葉 県)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 2387 号
学位授与年月日	平成 12 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	医学研究科
学 位 論 文 題 目	Inhibitory effects of ω -3 polyunsaturated fatty acids on receptor-mediated non-selective cation currents in rat A7r5 vascular smooth muscle cells. (血管平滑筋の受容体作動性 Ca^{2+} 透過性非選択性陽イオンチャンネルに対する ω -3 系多価不飽和脂肪酸の抑制効果)
主 査	筑波大学教授 薬学博士 幸 田 幸 直
副 査	筑波大学教授 医学博士 山 口 巖
副 査	筑波大学教授 薬学博士 後 藤 勝 年
副 査	筑波大学客員教授 薬学博士 本 田 一 男 (山之内製薬(株) 筑波研究センター)
副 査	筑波大学助教授 博士(医学) 宮 川 俊 平

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

海生動物の脂質に多く含まれる ω -3 系多価不飽和脂肪酸であるイコサペンタエン酸 (EPA) は、臨床的に血圧降下作用が報告されており、その血管弛緩の機序として内皮細胞由来のプロスタグランジン代謝への関与があげられている。また血管内皮細胞が内皮由来弛緩物質を産生、遊離していることが明らかになったが、EPA が内皮由来弛緩物質産生を増加させ、内皮依存性拡張反応を示すことも報告されている。しかし、内皮細胞を取り除いた血管においても、EPA が昇圧物質による動脈収縮を抑制すると報告されており、血管平滑筋細胞への EPA の直接作用の可能性が示唆されている。そこで本研究では、直接作用の機序解明を目的に血管平滑筋細胞のイオンチャンネルにおよぼす ω -3 系多価不飽和脂肪酸の影響について検討した。

(対象と方法)

ラット胎児由来の培養大動脈平滑筋細胞 A7r5 を用い、細胞膜に設置したパッチ電極によってイオンチャンネルを通ったイオンの出入りを電流としてとらえる whole-cell voltage clamp 法により電氣的活動を測定した。

(結果)

A7r5 細胞の保持電位を -40mV とし、 K^+ 存在下で EPA あるいはドコサヘキサエン酸 (DHA) $30\text{ }\mu\text{M}$ を添加したとき、外向きの電流が認められ、この外向き電流は K^+ を CS^+ に置換すると認められなかったことから、これらが K^+ チャンネルを介して細胞外への K^+ 流出を促進させることがわかった。また、保持電位 -60mV において、A7r5 細胞の外液に血管作動性物質であるバソプレシンを 100nM 添加すると内向き電流が出現し、平滑筋の収縮をもたらす Ca^{2+} の細胞内への流入が認められた。この内向き電流は陽イオンの種類にかかわらず認められた。また、イオン選択性の高い電位依存性 L 型 Ca^{2+} チャンネルの阻害薬のニフェジピン ($10\text{ }\mu\text{M}$) では全く抑制されなかったが、

Cd^{2+} や La^{3+} (1mM) によって完全に抑制された。従って、この内向き電流は非選択性陽イオンチャネルの開口によるものであることが示唆された。血管作動性物質をバソプレシンからエンドセリン-1に変えても、同様な性質の内向き電流を認めた。この陽イオンチャネルにおいて、バソプレシン添加によって活性化された電流は、EPA30 μM で明らかに抑制された。このEPAの抑制効果は、3, 30, 100 μM の添加濃度において濃度依存性が認められ、50%抑制濃度は約7 μM であった。また、DHA、ドコサペンタエン酸 (DPA) も抑制効果を認めたが、その作用はEPAより弱く、 $\text{EPA} > \text{DHA} > \text{DPA}$ の順であった。エンドセリン-1によって活性化された電流も、EPA30 μM によって抑制された。EPAの作用点が血管作動性物質のレセプターであるか否かを検討するため、電極内に guanosine-5'-o- (3-thiotriphosphate) ($\text{GTP } \gamma \text{ S}$) を添加したが、 $\text{GTP } \gamma \text{ S}$ 添加によってもEPAによる Ca^{2+} 流入抑制に変化はなかった。EPAで認められた Ca^{2+} 透過性非選択性陽イオンチャネルに対する抑制作用は、 ω -6系多価不飽和脂肪酸であるアラキドン酸とリノール酸 (10, 30 μM) ではわずかに、一価の不飽和脂肪酸であるオレイン酸や飽和脂肪酸であるステアリン酸 (30 μM) では、ほとんど抑制効果を認められなかった。

(考察)

ω -3系多価不飽和脂肪酸の添加により外向きの電流が促進され、この外向き電流は K^+ を Cs^+ に置換すると認められなかったことから、 K^+ チャネルを介した K^+ の細胞外への流出によって生じるものと考えられ、血管弛緩作用は K^+ チャネルの活性化に基づく過分極によるものであることが判明した。また、 ω -3系多価不飽和脂肪酸は、血管作動性物質のバソプレシンやエンドセリン-1による陽イオンチャネルを介した内向き電流を抑制し、さらに $\text{GTP } \gamma \text{ S}$ 投与による直接のG蛋白活性化による内向き電流もEPAは抑制したことから、 ω -3系多価不飽和脂肪酸の作用部位は血管収縮物質の受容体を介するものではなく、受容体以降のシグナル、すなわちイオンチャネルへの直接効果と考えられる。これらのことから、 ω -3系多価不飽和脂肪酸は、 K^+ チャネルへは促進的に、 Ca^{2+} 透過性非選択性陽イオンチャネルには抑制的に直接的に作用することが示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

ω -3系多価不飽和脂肪酸による血管弛緩の機序に関しては、血管内皮細胞を介した間接的な作用だけでなく、直接的な作用による血管弛緩の可能性が示唆されていた。本研究は、血管平滑筋細胞において、 ω -3系多価不飽和脂肪酸が K^+ の細胞外流出と血管作動性物質による Ca^{2+} の流入を直接的に制御することによって血管の収縮を抑制し、血管の収縮、弛緩に重要な役割を果たしていることを見出したものであり、この成果は今後の本分野の研究に大きく貢献することが期待される。なお、本論文はすでに英文原著論文として発表され、医学研究科優秀英論文賞奨励賞を受賞している。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。