

氏名（本籍）	芹澤 賢一 （ 静岡県 ）		
学位の種類	博 士（ 学術 ）		
学位記番号	博 甲 第 6913 号		
学位授与年月日	平成26年 3月25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	生命環境科学研究科		
学位論文題目	<b>Nicorandil Improves Endothelial Function via Reduction of Oxidative Stress; Evaluation of in vivo Endothelial Function by Measurement of Flow-Mediated Dilatation in Rats</b> （ニコランジルは酸化ストレス抑制を介して血管内皮機能を改善する； 血流依存性血管拡張反応測定によるラットの in vivo 血管内皮機能評価）		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	千葉 智樹
副査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学教授	理学博士	中村 幸治
副査	筑波大学准教授	理学博士	坂本 和一

## 論 文 の 要 旨

本論文は、血管を摘出することなく小動物の血管内皮機能を測定する方法を開発し、薬剤ニコランジルのもつ血管内皮機能改善効果と、その分子機序を解析したものである。血管は内膜、中膜、外膜の3層構造からなっており、血液に触れる一番内側の内膜は人体最大の内分泌器官である。この内膜を構成する一層の血管内皮細胞は種々の血管作動物質を放出して血管の収縮・弛緩を調節し、炎症制御や血栓抑制などの役割を担う。また糖尿病、高血圧、喫煙、加齢など、様々な要因によっておこる血管内皮機能障害は、動脈硬化、狭心症、心筋梗塞などの心血管イベントの発症率と密接に関連しているため、その予測因子として注目されている。

血管を一過性に虚血再灌流すると、反応性充血に伴うシェアストレスにより内皮細胞は一酸化窒素（NO）を分泌して血管を拡張させる。この血管拡張能を評価する flow-mediated dilatation (FMD) 法は、様々な血管内皮機能評価法の中で非侵襲的かつ患者負担の少ないものとして注目されているが、小動物への適用は困難であった。

ニコランジルは狭心症・急性心不全治療薬であり、国内外の大規模臨床試験にて狭心症患者の長期予後（心血管イベント発症率）を改善することが証明されている。ニコランジルは NO 様作用のほか、ミトコンドリア  $K_{ATP}$  チャンネル開口作用を併せ持ち、その改善効果は血管拡張作用を介した循環改善以外に  $K_{ATP}$  チャンネルの開口を介した保護効果も寄与していると考えられている。

本論文ではラットを用いて、狭心症患者の多くが抱えている糖尿病性血管内皮障害と、カテーテル治療に汎用される薬剤溶出性ステントによる血管内皮障害の二つの血管内皮障害モデル実験を行い、その血管内皮機能に対するニコランジルの効果を FMD 法で評価し、その分子機序を解析した。

糖尿病を合併した狭心症患者においてニコランジルは長期予後改善効果のあることが認められているが、血管内皮機能に対する効果と分子機序は不明であった。そこで Sprague-Dawley (SD) 雄ラットに streptozotocin (STZ) を投与して糖尿病モデルを作出し、ニコランジルを飲水投与した。大腿動脈の FMD を測定した結果、糖尿病ラットでは FMD が有意に低下し、ニコランジル投与で回復した。高血糖状態が続くと血管内皮の酸化ストレスが上昇し、NO 合成酵素 (eNOS) の発現や機能が低下することが知られている。糖尿病ラットの大腿動脈においても  $p47^{phox}$  (NADPH oxidase 構成因子) の増加が認められ、また eNOS uncoupling の亢進による eNOS 機能低下が認められた。ニコランジル投与は、 $p47^{phox}$  を低下さ

せ、eNOS uncoupling も是正した。これらの効果は高グルコース処置した培養内皮細胞でも観察された。ROS の発生が血管機能低下の原因と考えられたため、ラジカルスカベンジャーである tempol を糖尿病ラットに投与すると、その FMD は改善された。従ってニコランジルは酸化ストレスを抑制することにより eNOS 機能を改善し、糖尿病を合併した狭心症患者の長期予後に寄与していると考えられた。

狭心症や心筋梗塞などの治療として行われる冠動脈インターベンションに、薬剤溶出性ステント (drug-eluting stent; DES) が汎用されている。DES は従来のステントで問題となった内膜増殖によるステント再狭窄を解決することを目的に細胞増殖を抑制する薬剤がコーティングされている。しかし、DES はその優れた再狭窄抑制効果の一方で血管内皮を障害することが懸念されている。そこで、この DES による血管内皮障害に対するニコランジルの効果を検討した。まず DES に使用されている paclitaxel をラットに投与すると濃度依存的に FMD の低下を示した。ニコランジルおよび mitochondrial  $K_{ATP}$  channel opener である diazoxide もその FMD 低下を改善したことからミトコンドリア  $K_{ATP}$  チャンネル開口作用が重要であると考えられた。さらに tempol も FMD 改善効果を示したことから ROS 産生が血管内皮障害の原因と考えられた。ニコランジルは paclitaxel により増加した大腿動脈の p47<sup>phox</sup> mRNA を低下させ、また培養内皮細胞を用いた実験系にてニコランジルは paclitaxel による ROS 産生を抑制した。この効果は  $K_{ATP}$  チャンネル阻害剤で抑制された。以上の結果から、ニコランジルはミトコンドリア  $K_{ATP}$  チャンネルを開口することで ROS 産生を抑制し、DES による血管内皮機能障害を抑制することが示唆された。

## 審 査 の 要 旨

本学位論文において著者は、小動物の血管内皮機能を非侵襲的に評価する方法を開発し、血管内皮機能に対するニコランジルの効果を証明することに成功した。本成果によって、血管内皮機能を生きた個体で解析することが可能となり、今後様々な心血管イベントに対する薬剤の評価が可能となったことは高く評価される。また著者は複数の血管内皮障害モデル実験を行い、ニコランジルがミトコンドリア  $K_{ATP}$  チャンネル開口作用を通じて活性酸素種の発生を抑制し、血管内皮機能を保護することも解明した。これらの分子機序の解明は、様々な心血管イベントの病態解明や治療薬開発に示唆を与える重要な知見であり、今後の当該分野における研究が大きく進展することが期待される。

平成 26 年 1 月 24 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (学術) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。