

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	アンジオテンシン II の導管動脈血管弾性に対する修飾機構に関する研究
作成者（著者）	佐久間, 清
公開者	東邦大学
発行日	2020.03.15
掲載情報	東邦大学大学院薬学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査: 高原 章 /
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲961号
学位記番号	甲125号
学位授与年月日	2020.03.15
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD35959014

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

アンジオテンシンⅡの導管動脈血管弾性に対する修飾機構に関する研究

薬物治療学分野

佐久間 清 印

【背景・目的】

アンジオテンシンⅡ（ATⅡ）は血管収縮作用やアルドステロン分泌作用により高血圧を来す代表的な昇圧系ホルモンの1つである。ATⅡは血管障害など血管壁に生じる器質的変化を促進させる作用を有し、動脈硬化の発症や進展においても重要な役割を果たしている。動脈硬化の進展の程度は血管弾性の計測により見積もることが可能と考えられ、脈波伝搬速度を指標にした臨床検査法が繁用されていることに加え、ATⅡが脈波伝搬速度を増加させる作用を有することが麻酔ウサギを用いた実験で報告されている。ところが、脈波伝搬速度は血管壁厚、血管内径変化量および血管内圧に依存する指標であることから、この研究結果より ATⅡが血管を拘縮させて血管弾性を低下させたと説明することはできない。一方で、測定時血圧に依存しない特徴を有する血管弾性の指標として Cardio-Ankle Vascular Index（CAVI）が2004年頃に確立された。本指標は stiffness parameter β を長さのある血管に適用することで血管弾性を生体位で計測できることが特徴であり、大動脈起始部から足首までの範囲の導管動脈の血管弾性の変化を一塊として検出することが可能である。ATⅡが血管弾性に及ぼす影響を明らかにするためには本指標の利用が有効と考えられるが、基礎研究に応用されている事例は少ない。

当研究室では血管弾性指標 CAVI を生体位で計測し、導管動脈の血管弾性の変化を検出する方法を麻酔ウサギを用いて確立してきた。本研究では ATⅡが動脈血管弾性に与える影響を明らかにするため、第1章および第2章では ATⅡの急性投与および持続投与が CAVI に与える影響を検討した。これらの研究結果をもとに動脈血管領域ごとの血管弾性測定方法を新たに確立し、第3章では ATⅡが大動脈領域と大腿動脈領域の血管弾性に及ぼす影響を検討した。第4章では ATⅡが各動脈領域局所の内径変化に与える影響を血管内超音波画像診断装置を用いて検討した。

【方法】

<第1章>イソフルラン麻酔下で NZW ウサギより右上腕動脈および右脛骨動脈の血圧、心電図ならびに心音図を記録し CAVI を求めた。超音波血流計で右大腿動脈血流を計測し、下肢血管抵抗を求めた。ATⅡ（300 ng/kg）またはアドレナリン（1000 ng/kg）を静脈内投与し、各指標の変化を投与開始30分後まで観察した。

<第2章>ATⅡを充填した浸透圧ポンプを12週齢のウサギの腹腔内に留置し、左上腕血圧と CAVI を1週間毎に計測することで、ATⅡの持続投与が CAVI に与える影響を検討した。ATⅡは 50 ng/kg/min で4週間持続投与し、引き続き 100 ng/kg/min に増量し4週間持続投与した。

<第3章>ATⅡが大動脈領域と大腿動脈領域の各々の動脈血管の硬さ（ β 値）に与える影響を検討するため、腹部大動脈の左総腸骨動脈分岐部の血圧を第1章の方法に加えて測定し、各々の動脈血管領域の β 値（aortic β 、femoral β ）を計測する方法を確立した。これら指標に対する ATⅡ（300 ng/kg）の作用を評価し、さらに、AT₁ 受容体拮抗薬存在下で

同用量の AT II の作用を検討した。

＜第 4 章＞AT II が動脈血管局所の弾性に与える影響を調べるため、血管内超音波カテテルを頸動脈より腸骨動脈部に挿入し、腸骨動脈および胸部大動脈で血管断面像を連続的に撮影した。血管壁運動のデータより各々の部位の stiffness parameter β を算出し、AT II (300 ng/kg) 投与時の本指標の変化を観察した。

【結果および考察】

第 1 章 AT II が導管動脈血管弾性に与える影響

＜目的＞AT II が血管弾性指標 CAVI に与える影響を検討し、その特性を明確にするためアドレナリンの作用と比較検討した。

＜結果＞AT II は上腕動脈血圧と下肢血管抵抗を上昇させる用量で CAVI を上昇させた (図 1)。一方、アドレナリンは上腕動脈血圧と下肢血管抵抗を同程度に上昇させたが、CAVI に影響を与えなかった。

＜考察＞AT II は細動脈を収縮させて下肢血管抵抗を上昇させる作用に加えて、導管動脈血管の硬さを上昇させる作用を有することが示された。この作用はアドレナリンでは観察されないことから、血管収縮薬が導管動脈の血管弾性に与える影響は一樣ではないと考えられる。

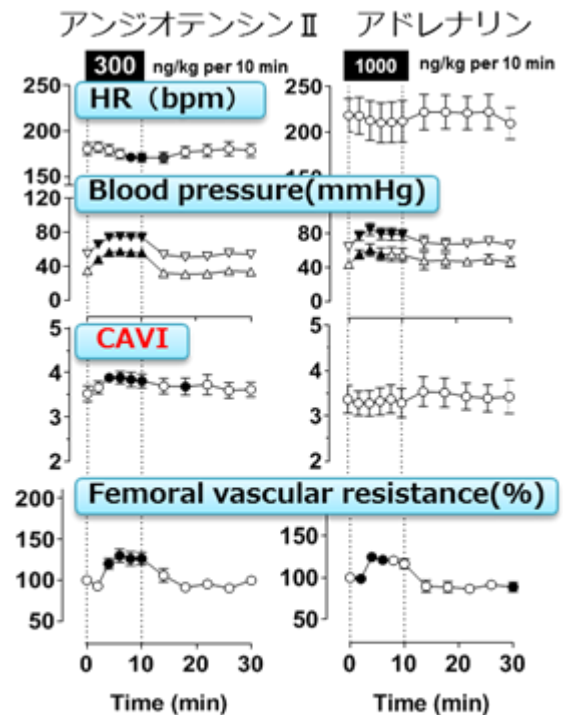


図1 AT II およびアドレナリンによるCAVIへの影響

第 2 章 AT II の持続投与が導管動脈血管弾性に与える影響

＜目的＞AT II は即時的な血管収縮作用を有するが、生理学的には中長期的な血管緊張度の調節に關与する生理活性物質としても知られる。AT II の持続投与が CAVI に与える影響を検討した。

＜結果＞Sham 群の血圧は観察期間中に変化を認めなかったが、CAVI は緩やかに上昇を示した。AT II 群の血圧は低用量で変化を示さなかったが、CAVI の上昇が Sham 群より大きく認められた。高用量の AT II は血圧を上昇させ、CAVI は投与開始 1-2 週目で低下したが、その後上昇に転じた (図 2)。

＜考察＞AT II は非昇圧用量で大

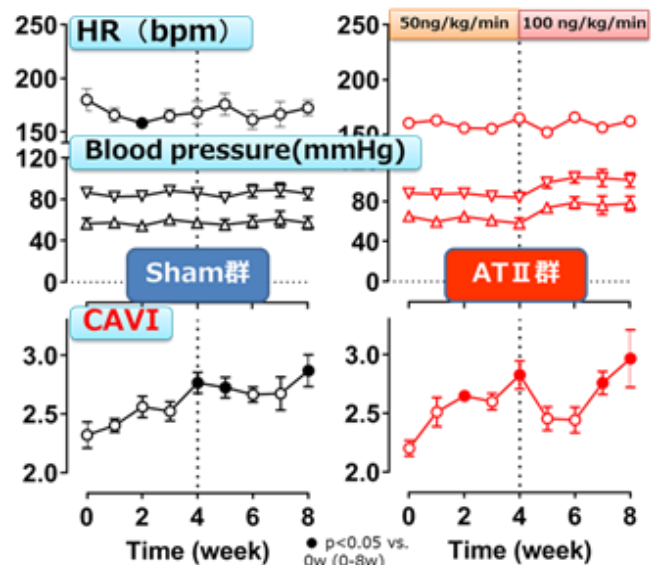


図2 AT II の持続投与がCAVIに与える影響

動脈から大腿動脈の範囲の動脈血管の硬さを増加させる作用を有することを見出した。AT IIは導管動脈血管の硬さを増加させる作用に加えて、硬さを低下させる作用機構を有することが昇圧用量による検討で明らかとなった。

第3章 AT IIが導管動脈の領域ごとの血管弾性に与える影響

<目的> AT IIは導管動脈血管の硬さを増加させる作用と低下させる作用の両者を有し、これら作用の総和が導管動脈血管に対する効果を反映していると考えられる。動脈血管は平滑筋や弾性線維から構成され、これらの存在比は血管部位により異なるが、AT IIがそれぞれの領域の血管弾性に与える作用は明らかでない。従来CAVIの測定方法を基盤に動脈血管領域ごとの血管弾性測定方法を新たに確立し、AT IIが大動脈領域と大腿動脈領域の血管の硬さに及ぼす影響を検討した。

<結果> AT IIは上腕動脈血圧およびfemoral β を上昇させ、aortic β を低下させた。ロサルタンの前投与は、AT IIによる上腕動脈

血圧およびfemoral β の上昇を抑制したが、aortic β の低下を抑制しなかった(図3)。

<考察> AT IIはAT₁受容体を介して大腿動脈領域の血管の機能的な硬さを上昇させるが、大動脈領域の血管の機能的な硬さに対しては反対の低下作用を示すことが明らかとなった。

第2章で観察されたAT II持続投与における動脈血管の硬さの低下は、大動脈領域におけるこのような作用が優位に出現した結果であると推定された。

第4章 AT IIが導管動脈血管の局所の血管弾性に与える影響

<目的> 本ウサギモデルに血管内超音波画像診断装置(IVUS)を適用して胸部大動脈および腸骨動脈における動脈壁運動を計測し、局所動脈血管の口径変動から求められるstiffness parameter β と第3章で用いた動脈血管の硬さの指標(aortic β とfemoral β)との関連性を明らかにする。

<結果> AT IIの投与により femoral β

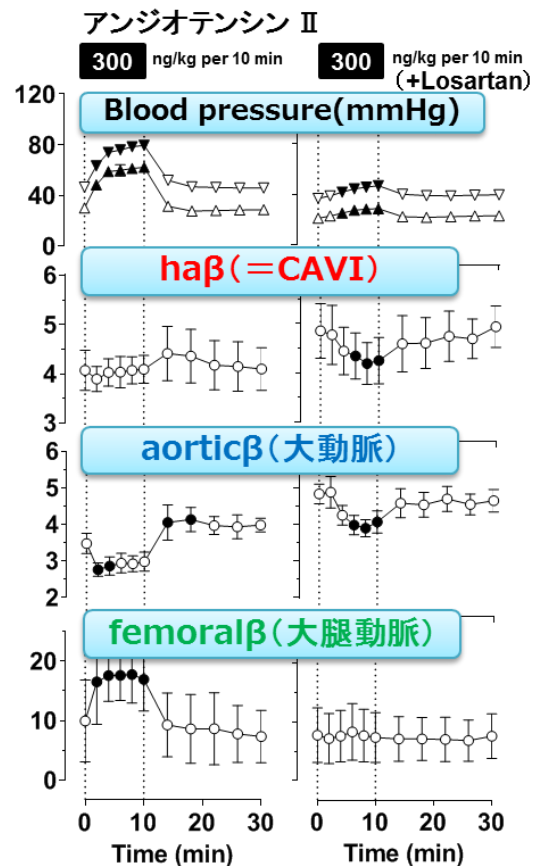


図3 AT IIによる動脈血管領域ごとの血管弾性への影響

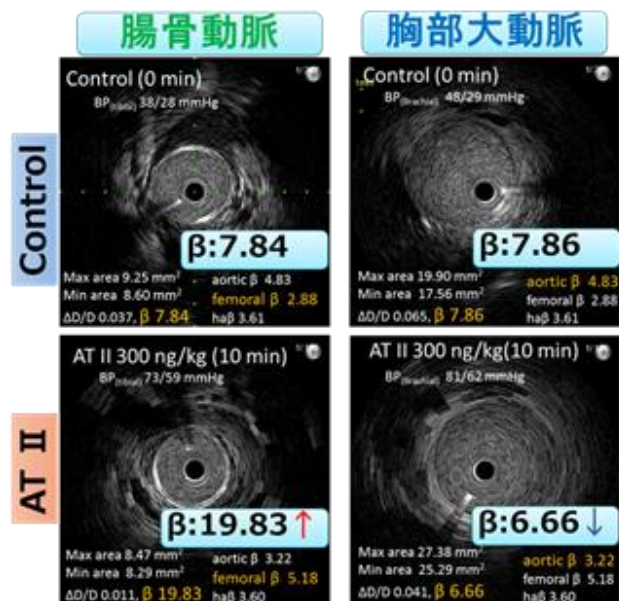


図4 AT IIによる動脈血管局所の血管弾性への影響

の上昇反応が観察され、このとき腸骨動脈部における血管壁運動が低下し、stiffness parameter β が上昇した。一方、AT II の投与により aortic β の低下反応が観察され、胸部大動脈部の血管壁運動が増加し、stiffness parameter β が低下した (図 4)。

<考察> AT II が大腿動脈領域および大動脈領域の β 値に及ぼす影響と、IVUS により局所的に計測した血管弾性の変化の方向性は一致していることが示された。AT II が大動脈領域の血管の硬さを低下させる作用を有することが、IVUS を用いた手法でも示された。

【総括】

急性投与した AT II は CAVI 上昇作用を示し、大動脈起始部から足首までの範囲において導管動脈血管を硬くする方向に修飾する生理活性物質であることが明らかとなった。導管動脈血管の硬さの測定範囲を大動脈領域と大腿動脈領域に区分して AT II の作用を検討したところ、AT II の導管動脈血管の硬さを上昇させる作用は大腿動脈領域で強く観察され、大動脈領域では逆に AT II が動脈血管の硬さを低下させることが見出された。前者の作用は AT₁ 受容体を介した作用であることが AT₁ 受容体拮抗薬ロサルタンを用いた実験で示された。後者の作用はロサルタン存在下でも観察されるものであり、興味深い反応として詳細な作用機序を今後明らかにしていく必要がある。AT II による昇圧時に大腿動脈領域の動脈血管の硬さが増加しても、大動脈領域には Windkessel 効果を介した平滑な全身循環動態の維持に寄与する AT II を介した修飾機構が存在することを示しており、意義ある知見と考えられる。

【対象論文】

Kiyoshi Sakuma, Akira Shimoda, Hiroki Shiratori, Tetsuya Komatsu, Kento Watanabe, Tatsuo Chiba, Megumi Aimoto, Yoshinobu Nagasawa, Yuichi Hori, Kohji Shirai, Akira Takahara.
Angiotensin II acutely increases arterial stiffness as monitored by cardio-ankle vascular index (CAVI) in anesthetized rabbits. J Pharmacol Sci. 2019 Jun;140(2):205-209.
<http://doi.org/10.1016/j.jphs.2019.06.004>

論 文 審 査 結 果

佐久間清氏 学位論文

「アンジオテンシンⅡの導管動脈血管弾性に対する修飾機構に関する研究」

アンジオテンシンⅡはレニン-アンジオテンシン系で中心的な役割を担う代表的な昇圧系ホルモンであり、血管抵抗を上昇させることで血圧調節に関与する。本ペプチドはAT₁受容体を介して血管収縮作用を示すと同時に組織リモデリングを促進させる平滑筋細胞の増殖作用を有し動脈硬化に関与することが知られている。アンジオテンシンⅡは、本論文で研究対象とした導管動脈に長期間暴露させるとリモデリング促進効果により血管構造が変化し、その結果、導管血管の弾性能を低下させるとされている。導管動脈は大動脈のように心臓から全身に隈無く血液を供給するための管として位置付けられているが、弾性能を有することから心臓から駆出された血液の脈動波の平滑化に寄与する器官としても機能している。アンジオテンシンⅡは急性作用として末梢臓器の細動脈を収縮させることで血圧を上昇させるが、このような変化が生じているときにアンジオテンシンⅡが大動脈をはじめとした導管動脈の弾性能に与える影響については十分な検討がなされていない。血管弾性能を生体位で推定する指標として脈波伝搬速度が知られ、臨床検査などで一般的に使用されている。脈波伝搬速度は血管壁厚、血管内径変化量および血管内圧に依存する性質を有することから、血管内圧を上昇させるアンジオテンシンⅡが脈波伝搬速度を上昇させたとしても、血管弾性を低下させたと説明することはできない。一方で、測定時血圧の影響を受けにくい stiffness parameter β 理論を基盤に確立された cardio-ankle vascular index (CAVI) は大動脈起始部から足首までの範囲の導管動脈の血管弾性の变化を一塊として生体位で計測可能な指標であるため、血圧に変動を与えるアンジオテンシンⅡが血管弾性に及ぼす影響を明らかにするためには本指標の利用が有効と考えられる。佐久間氏は導管動脈の血管弾性の経時的変化を実験的に計測することを目的に麻酔ウサギに CAVI 測定法を適用し、以下の検討を行っている。第1章および第2章でアンジオテンシンⅡの急性投与および慢性投与が CAVI に与える影響を検討し、これら実験結果に基づいて第3章では動脈血管領域ごとの血管弾性測定方法を新たに確立してアンジオテンシンⅡが大動脈領域と大腿動脈領域の血管弾性に及ぼす影響を検討している。第4章では血管内超音波画像診断装置を用いてアンジオテンシンⅡが各動脈領域局所の内径変化に与える影響を調べることで、第3章での検討結果を異なる角度から検証している。

第1章では、アンジオテンシンⅡの急性投与が血管弾性指標 CAVI に与える影響を検討し、その特性を明確にするためアドレナリンの作用と比較検討している。アンジオテンシンⅡは上腕動脈血圧と下肢血管抵抗を上昇させる用量で CAVI を上昇させ、アドレナリンは上腕動脈血圧と下肢血管抵抗を同程度に上昇させたが、CAVI に影響を与えないことを示している。以上の結果よりアンジオテンシンⅡはアドレナリンと異なり、細動脈を収縮させて下肢血管抵抗を上昇させる作用に加えて導管動脈血管の硬さを上昇させる作用を有することを見出している。

第2章では、アンジオテンシンⅡの慢性投与が CAVI に与える影響を検討している。血圧に変化を示さない用量のアンジオテンシンⅡは CAVI を上昇させる作用を示すことが確認され、第1章の急性投与による検討と類似の結果を得ている。一方で、血圧上昇作用を示す用量のアンジオテンシンⅡが

CAVI に与える影響は投与開始からの経過日数により反応が異なっており、投与開始 1-2 週目で CAVI は低下したが、その後上昇に転じている。アンジオテンシン II は導管動脈血管の硬さを増加させる作用に加えて、硬さを低下させる作用機構の両者を有することを明らかにしている。

第 3 章では第 2 章の結果を受け、アンジオテンシン II は導管動脈血管の硬さを増加させる作用と低下させる作用の両者を有し、これら作用の総和が導管動脈血管に対する効果を反映すると仮説を立て、これを実証するために従来の CAVI の測定方法を基盤に動脈血管領域ごとの血管弾性測定方法を新たに確立し、アンジオテンシン II が大動脈領域と大腿動脈領域の血管の硬さ（それぞれ aortic β と femoral β ）に及ぼす影響を検討している。本実験系において昇圧用量のアンジオテンシン II により上腕動脈血圧および femoral β の上昇を認める一方で、aortic β 低下作用を見出している。AT₁ 受容体遮断薬のロサルタンと AT₂ 受容体遮断薬の PD123319 を用いて作用機序を検討したところ、上腕動脈血圧および femoral β の上昇は AT₁ 受容体を介したものであり、aortic β 低下作用は AT₁ および AT₂ 受容体遮断では説明ができない何らかの機序の存在が想定される。昇圧時に生じる aortic β 低下作用は、大動脈が心臓から駆出された血液の脈動波の平滑化に寄与する器官であることを反映する事象であり、今後の機序解明は極めて重要である。また、第 2 章で観察されたアンジオテンシン II の慢性投与における動脈血管の硬さの低下は、大動脈領域におけるこのような作用が優位に出現した結果であると推測される。

第 4 章では、本ウサギモデルに血管内超音波画像診断装置（IVUS）を適用して胸部大動脈および腸骨動脈における動脈壁運動を計測し、局所動脈血管の口径変動から求められる stiffness parameter β と第 3 章で用いた動脈血管の硬さの指標（aortic β と femoral β ）との関連性を明らかにしている。昇圧用量のアンジオテンシン II により femoral β の上昇が認められ、このとき IVUS により腸骨動脈部における血管壁運動低下と stiffness parameter β 上昇が観察されている。同時に aortic β の低下が認められ、IVUS により胸部大動脈部の血管壁運動増加と stiffness parameter β 低下が観察されている。以上より、アンジオテンシン II が大腿動脈領域および大動脈領域の β 値に及ぼす影響と IVUS により局所的に計測した血管弾性の変化の方向性は一致しており、アンジオテンシン II が大動脈領域の血管の硬さを低下させる作用を有することが IVUS を用いて視覚的にも明確にされた。

佐久間氏による一連の研究成果は、アンジオテンシン II が大動脈をはじめとした導管動脈の弾性能に与える影響を明快に示したものであり、主体となる実験結果は学術論文として公表されている。申請論文の内容は、動脈血管の構造と血管の生理機能や薬理作用との関係性を生体レベルで検討する新たな道筋を切り拓くものであり、臨床生理検査で得られる CAVI 値の変化と病態生理学との関係性を議論する上で新たな情報を提供し、価値ある知見を与え得るものと考えられる。以上より、佐久間氏の申請論文を博士（薬学）の授与に値するものと判断する。

令和 2 年 2 月 19 日

高原 章