

アラキドン酸ヒドロペルオキシドによる血管内皮細胞障害*

越智 宏**

吉富製薬株式会社中央研究所

Endothelial Cell Injury Induced by Arachidonate Hydroperoxide

Hiroshi OCHI

Research Laboratories, Yoshitomi Pharmaceutical Industries, LTD.

要 旨

血管内皮細胞障害は、血栓症や動脈硬化症など種々の循環器疾患の初期病変として注目されており、その障害因子の検索や障害メカニズムの解明さらには障害予防薬の探索は重要な研究課題であると考えられている。

本研究では、まず *in vitro* で血管内皮細胞障害を判定できる実験系の検討を行った。ウシ頸動脈由来の培養血管内皮細胞を [⁵¹Cr] クロム酸ナトリウムで標識し、障害により細胞から遊離される放射能を測定して内皮細胞障害の指標とした。種々のアラキドン酸代謝物の内皮細胞障害作用について調べたところ、ほとんどのアラキドン酸代謝物は細胞障害作用を示さなかったが、リポキシゲナーゼ代謝物の一つである 15-ヒドロペルオキシエイコサテトラエン酸 (15-HPETE) が極めて強力な内皮細胞障害作用を示すことを見出した。この 15-HPETE による内皮細胞障害作用は時間、濃度および温度依存性を示した。また、12-HPETE にも 15-HPETE と同じ程度の内皮細胞障害作用が見られたが、過酸化水素や *t*-ブチルヒドロペルオキシド はこれらのアラキドン酸ヒドロペルオキシドに比べて障害作用が弱かった(1)。

次に、この 15-HPETE による血管内皮細胞障害のメカニズムを解明するため、以下の検討を行った。

15-HPETE は、内皮細胞で産生されて細胞保護作用を示す プロスタサイクリン (PGI₂) の強力な産生阻害剤であるので、まず、本細胞障害と PGI₂ との関連性について調べた。内皮細胞に 15-HPETE を添加すると、細胞障害とともに顕著な PGI₂ 産生の抑制が認められた。しかし、15-HPETE による内皮細胞の障害作用と PGI₂ 産生の抑制作用との間には、時間依存性および濃度依存性において明らかな差が観察された。また、内皮細胞を予めアスピリンで処理して PGI₂ の産生を完全に抑制しておいた場合でも 15-HPETE による内皮細胞障害は増悪されなかった。さらに、PGI₂ 誘導体を添加しても本細胞障害は抑制されなかった。以上の結果より、15-HPETE による血管内皮細胞障害のメカニズムに PGI₂ が関与している可能性は低いものと推察された(2)。

広島大学総合科学部紀要Ⅳ理系編、第18巻、pp111-113(1992)

* 広島大学審査学位論文

口頭発表日 1992年6月10日、学位取得日 1992年7月10日

**現在の所属：吉富製薬株式会社中央研究所

そこで、 $[^3\text{H}]$ で標識した 15-HPETE を用いて、内皮細胞への取り込みと細胞障害との関連性について調べた。その結果、 $[^3\text{H}]$ 15-HPETE が経時的に細胞内リン脂質画分へ取り込まれることを見出し、この細胞内への取り込みと細胞障害の発現との間に緊密な関係があることも判った。さらに、リン脂質内に取り込まれた $[^3\text{H}]$ 15-HPETE の一部が $[^3\text{H}]$ 15-ヒドロキシエイコサテトラエン酸 ($[^3\text{H}]$ 15-HETE) の形で存在することが確認された。また、脂質過酸化反応の生成物であるマロンジアルデヒドが 15-HPETE 処理により顕著に増加していた。そこで、この 15-HPETE による内皮細胞障害に対する種々の薬剤の作用を調べたところ、ラジカルスカベンジャーや抗酸化剤、鉄キレーターが濃度依存的に内皮細胞の障害を抑制し、さらにこれらの薬剤は 15-HPETE による脂質過酸化反応をも強力に抑制した。以上の結果より、15-HPETE による血管内皮細胞の障害機構に、細胞内に取り込まれた 15-HPETE による膜の脂質過酸化反応が重要な役割を果たしていることが明らかになった (3)。

血管内皮細胞は酸化ストレスから細胞自身を保護するために防御システムとして種々の活性酸素消去系を保持している。そこで、15-HPETE による血管内皮細胞障害に対するこの活性酸素消去系の作用について調べた。カタラーゼおよびスーパーオキシドジスムターゼはこの細胞障害に対して全く防御作用を示さなかったが、還元型グルタチオン (GSH) は濃度依存的に 15-HPETE による内皮細胞障害を抑制した。そこで、細胞内における GSH レベルと内皮細胞障害との関係を調べたところ、15-HPETE による内皮細胞の障害作用は細胞内の GSH レベルに依存していることが明らかになった。また、内皮細胞による 15-HPETE から 15-HETE への変換も細胞内の GSH レベルに依存していた。さらに、内皮細胞への 15-HPETE の添加は GSH ペルオキシダーゼ活性の顕著な低下を引き起こし、一方、セレンなどの GSH ペルオキシダーゼ活性化剤はこの細胞障害を強力に抑制した。以上の結果より、15-HPETE による血管内皮細胞障害の防御機構に、GSH/GSH ペルオキシダーゼ系が関与している可能性が強く示唆された(4)。

以上、生体内における脂質ペルオキシドの一種であるアラキドン酸ヒドロペルオキシドによる血管内皮細胞の障害について検討し、以下の結論を得た。

- (1) 15-HPETE による内皮細胞の障害は、過酸化水素や α -ブチルヒドロペルオキシドによる障害よりも顕著であった。
- (2) 内皮細胞の障害に PGI_2 は関与していなかった。
- (3) 内皮細胞の障害に鉄依存性のラジカル反応を介した脂質過酸化反応が関与していることが示唆された。
- (4) 内皮細胞の障害に対して、GSH/GSH ペルオキシダーゼ系が防御機構として重要な役割を果たしていることが判った。

活性化された白血球や血小板、血管内皮細胞などで産生されるアラキドン酸ヒドロペルオキシドにより顕著な血管内皮細胞の障害が惹起されることが明らかになった。血管内皮細胞の障害は種々の動脈硬化性疾患の病因と関わっていることから、本研究はこれら疾患の予防薬の開発に役立つものと考えられる。

引用文献

1. Ochi H., Morita I. and Murota S. (1990): Acta Med. Biol. 38 (Suppl.): 21-29.
2. Ochi H., Morita I. and Murota S. (1990): Prostaglandins Leukotrienes Essent. Fatty Acids 41:157-161.

3. Ochi H., Morita I. and Murota S. (1992) : Biochim. Biophys. Acta 1136 : 247 - 252.
4. Ochi H., Morita I. and Murota S. (1992) : Arch. Biochem. Biophys. 294 : 407 - 411.