

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 ( 医学 )		氏名	唐崎 航平
学位授与の条件	学位規則第 4 条第① 2 項該当			
論文題目 Angiotensin II Type 1 Receptor Blocker Prevents AAA Progression in Osteoprotegerin-Deficient Mice via Up-regulation of Angiotensin (1-7) (アンジオテンシン II 1 型受容体拮抗薬はオステオプロテゲリン欠損マウスにおける腹部大動脈瘤の進行をアンジオテンシン(1-7)の上方制御を介して抑制する)				
論文審査担当者				
主 査	教授	高橋 信也	印	
審査委員	教授	東 幸仁		
審査委員	准教授	石田 万里		
〔論文審査の結果の要旨〕				
<p>腹部大動脈瘤 (abdominal aortic aneurysm: AAA) は、喫煙や動脈硬化などが関連する血管壁の慢性炎症を背景に腹部大動脈径が進行性に拡張する疾患である。AAA は、その拡張とともに致命的イベントである破裂のリスクが高まるため、ステントグラフトや人工血管を用いた大動脈修復術で待機的に治療される。一方で、AAA の進行を抑制する薬物治療などの内科的治療法は確立されておらず、修復術の適応とはならない小・中瘤径の AAA に対する効果的な治療戦略の開発が希求されている。</p> <p>angiotensin II 1 型受容体拮抗薬 (angiotensin II type 1 receptor blocker: ARB) は、血管の収縮やリモデリングを惹起する angiotensin (Ang) II の受容体への結合を阻害する高血圧治療薬である。脂質異常症モデルマウスへの Ang II の投与は、大動脈瘤様の病態を惹起するため、Ang II は、AAA における有望な治療標的の一つと目されてきた。しかし、これまでに行われてきた臨床研究では、Ang II シグナリングを阻害する ARB の服用が AAA の進行に与える影響について矛盾する報告がなされており、AAA に対する ARB の有効性の有無について未だ決定的な結論に至っていない。申請者はこの ARB の有効性をめぐる議論の背景に、未解明の ARB による AAA 進行抑制メカニズムが存在すると仮定し、その解明を目的とした検討を行った。</p> <p>本研究において申請者は、CaCl<sub>2</sub> を大動脈に直接塗布することで AAA を誘導するマウスモデルを適用した場合に野生型マウスと比較して AAA が進行する <i>Osteoprotegerin</i> (<i>Opg</i>) -knockout (KO) マウスを用いた。<i>Opg</i>-KO マウスの AAA 重症化には、本来 <i>Opg</i> が活性を抑制するサイトカイン、tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (Trail) が関連すると示唆されている。Trail は、血管平滑筋細胞において、AAA における炎症・組織破壊の進展に重要なシグナル伝達分子の c-Jun N-terminal kinase (Jnk) を活性化し、下流のタンパク質分解酵素の matrix metalloproteinase 9 (Mmp9) 発現を上昇させる。Mmp9 は大動脈の弾性線維を分解し AAA を増悪させる。すなわち、<i>Opg</i>-KO マウスでは、<i>Opg</i> 欠損に伴う過剰な Trail の活性化による Jnk-Mmp9 経路活性化を背景に、重度の AAA 進行が生じる。申請者は、この Trail-Jnk-Mmp9 経路が関連する <i>Opg</i>-KO マウスの AAA 進行における ARB 投与の効果を検討し、AAA に対する ARB の治療効果の新たな機序の解明を試みた。</p> <p>まず、AAA の進行に対する ARB の作用を検討するために、AAA 誘導の 2 週間前から野生型マウスと <i>Opg</i>-KO マウスに ARB のオルメサルタンを投与する実験を行った。AAA 誘導 6 週間後、先行研究同様に野生型マウスと比較して、<i>Opg</i>-KO マウスでは重度の大動脈の拡張や大動脈中膜組織の崩壊が認められた。オルメサルタンの投与は、これらの <i>Opg</i>-KO マウスにおける重度の AAA 病態を野生型マウス</p>				

と同程度にまで改善した。次に申請者は、*Opg*-KO マウスの AAA 進行に関連する Trail 誘導性の Jnk-Mmp9 経路活性化を、蛍光免疫染色で観察した。AAA 誘導 6 週間後の *Opg*-KO マウスの腹部大動脈壁では、活性型 Jnk であるリン酸化 Jnk と Mmp9 の共局在性の発現が豊富に認められ、野生型マウスと比較して Jnk-Mmp9 経路が活性化していると示唆された。一方で、オルメサルタンを投与した場合には、これらの発現上昇は有意に減弱していた。これらの結果から、オルメサルタンの投与は、Trail 誘導性の Jnk-Mmp9 経路活性化の減弱を伴って、*Opg*-KO マウスの AAA 進行を抑制することが示唆された。

次に、オルメサルタンの AAA 進行抑制作用の機序の探索を試み、Trail-Jnk-Mmp9 経路の活性化抑制に関与する分子として、Ang (1-7)に着目した。Ang (1-7)は、主に Ang II が angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) による代謝を受けて生成されるヘプタペプチドで、Ang II シグナリングに拮抗する作用や抗炎症作用を持つことが知られるほか、内皮細胞におけるリポポリ多糖やパルミチン酸による Jnk リン酸化を抑制する。オルメサルタンを含む ARB は、心臓などにおける ACE2 の発現を増加させ、Ang (1-7)の血中濃度を上昇させることが示唆されている。申請者は、オルメサルタン投与により増加する Ang (1-7)が、Trail-Jnk-Mmp9 経路の活性化抑制を介して *Opg*-KO マウスの AAA 重症化を抑制すると推測した。まず申請者は、先行研究と同様にオルメサルタンの投与が心臓の *Ace2* mRNA 発現を増加させることを観察した。さらに、野生型マウス血管平滑筋細胞培養系を用いた検討で、培地への Ang (1-7)の添加が Trail 誘導性の Jnk リン酸化、*Mmp9* mRNA 発現上昇を抑制することを見出した。これらの Ang (1-7) の作用は、Ang (1-7)受容体の拮抗剤である A779 の培地への添加により消失したため、Ang (1-7)はその受容体を介して Trail 誘導性の Jnk-Mmp9 経路活性化を抑制するものと推測された。

上記の結果から、オルメサルタンの投与による ACE2/Ang (1-7)軸の上方制御が、Trail-Jnk-Mmp9 経路活性化に伴う *Opg*-KO マウスの AAA 進行を抑制するという仮説が導かれた。この仮説の検証のため、オルメサルタンに加えて Ang (1-7)受容体拮抗剤の A779 を *Opg*-KO マウスに投与する *in vivo* 実験を行った。A779 は、浸透圧ミニポンプを用いて AAA 誘導時から組織採取時まで皮下に持続投与された。先述の *in vivo* 実験同様に、オルメサルタンは、*Opg*-KO マウスの過剰な AAA 拡張を抑制したが、A779 はその作用を減弱した。また、オルメサルタンによる *Opg*-KO マウスの AAA における組織変性の抑制も A779 の投与により減弱した。AAA 組織を用いた蛍光免疫染色では、オルメサルタン投与による Trail、リン酸化 Jnk、Mmp9 の発現抑制が観察されたが、A779 の投与下ではこれらの発現抑制は生じなかった。したがって、*Opg*-KO マウスにおけるオルメサルタンの AAA 進行抑制作用において、Ang (1-7)の増加が重要な役割を果たすことが示唆された。

以上の検討により、ARB のオルメサルタンが *Opg*-KO マウスの AAA 進行を抑制することが明らかとなった。また、オルメサルタンによる AAA 進行抑制の機序として、ACE2 / Ang (1-7)軸の上方制御に伴う Trail-Jnk-Mmp9 経路の活性減弱が示唆された。本研究成果は、AAA 治療の開発において、Ang (1-7)の増加が重要な治療戦略となる可能性を新たに示唆している。同時に本成果は、ARB が本来の作用である Ang II シグナリング阻害作用のみならず、ACE2/Ang (1-7)軸の上方制御作用を有する点でも、AAA 治療薬として有用である可能性を示しており、臨床研究の基盤となり得る重要な基礎研究である。

よって、審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。