

学位論文題名

ACE-Independent Angiotensin Formation In a Human
Model of Myocardial Ischemia : Modulation of
Norepinephrine Release by AT₁ and AT₂ Receptors

(ヒト心筋虚血モデルにおける Angiotensin による

Norepinephrine 放出の機序に関する検討

- Angiotensin II の合成経路とその receptor subtype の役割について)

学位論文内容の要旨

【背景】心臓交感神経終末から放出される norepinephrine (NE) は、心筋虚血再灌流傷害において致死的不整脈を惹起する原因の1つであり、心筋虚血後に NE release を制御することは臨床的に重要な意義を持つことと考えられる。Angiotensin II (Ang II) は、心臓交感神経終末からの NE release に寄与する事が知られている。そこで我々は、in vitro でのヒト心筋虚血モデルを用い局所で生合成される Ang II の合成系 [ACE dependent または ACE independent (chymase dependent) pathway] あるいは、その receptor (AT₁ receptor または AT₂ receptor) を阻害することにより虚血後に放出される NE を制御できないか検討した。

【対象と方法】人工心肺症例において切り出される右心耳の切片を使ったヒト心筋虚血モデルを用いた。手術室より標本を得て直ちに、標本を 25 mg 程度に切り分け、15分間酸素化された Krebs-Henseleit solution (KHS) にさらす (stabilization period)。ついでそれぞれの切片を薬物入り、あるいは薬物なしの酸素化された KHS に50分さらす (incubation period)。次に切片は、薬物入り、あるいは薬物なしの glucose-free KHS に移され、さらに酸素の代わりに 95%N₂+5%CO₂ にさらされる (anoxic period)。70分間の anoxia の後、いわゆる carrier-mediated NE release が誘導される。この NE を high performance liquid chromatography にて測定した。

【結果】まず最初に Ang II 合成系 (ACE dependent または ACE independent pathway) の阻害に取り組んだ。enalaprilat による ACE dependent pathway の阻害によっては、NE release は有意に抑制されなかった。しかし bradykinin (BK) B₂ receptor blocker との併用で NE release は有意に抑制された。一方で、chymostatin、

Bowman-Birk inhibitor、 α_1 -antitrypsin らによる ACE independent (chymase dependent) pathway の Ang II 合成阻害によって NE release は有意に抑制された。また、mast cell stabilizer は、有意に NE release を抑制した。ついで Ang II の receptor の作用を検討した。AT₁ receptor blocker は、NE release を有意に抑制したが、AT₂ receptor blocker は抑制しなかった。しかし、AT₂ receptor blocker は AT₁ receptor blocker の NE release 抑制作用を有意に阻害した。さらに、AT₁ receptor blocker と AT₂ receptor agonist の供役性が認められた。また、AT₁ receptor blocker と Na⁺/H⁺ exchanger inhibitor の供役性も認められた。

【考察】この結果より次のことが示唆される。1) ヒト心筋では、Ang II の生合成に関し、ACE independent (chymase dependent) pathway が、ACE dependent pathway より重要であると考えられる。2) BK の NE release への寄与は、Ang II の合成系が阻害されたときのみ認められる。3) 心筋虚血の際、mast cell が脱顆粒され、そこに貯留されている chymase が放出される。この chymase がヒト心筋では Ang I から Ang II の conversion に関し重要な役割を演じている。4) AT₁ receptor と AT₂ receptor は、carrier-mediated NE release に関し逆の作用 (AT₁ は促進、AT₂ は抑制作用) を有する。しかし、AT₁ receptor が阻害されたときのみ、AT₂ receptor の作用が発現する。5) AT₁ receptor を介して Na⁺/H⁺ exchanger が刺激され、carrier-mediated NE release が惹起されるものと考えられる。

【結論】心筋虚血の際、交感神経終末から放出される NE は、冠血管を収縮させ、また心筋内 Ca 濃度を上昇させ、致死的不整脈を惹起する。さらに虚血心筋では mast cell の集簇が認められる。心筋虚血後の mast cell-chymase-Ang II 系の制御は、carrier-mediated NE release を抑制し、臨床応用に有効だと考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 北 島 顕
副 査 教 授 川 口 秀 明
副 査 教 授 安 田 慶 秀

学 位 論 文 題 名

ACE-Independent Angiotensin Formation In a Human Model of Myocardial Ischemia : Modulation of Norepinephrine Release by AT₁ and AT₂ Receptors

(ヒト心筋虚血モデルにおける Angiotensin による
Norepinephrine 放出の機序に関する検討

- Angiotensin II の合成経路とその receptor subtype の役割について)

本研究の目的は、ヒト心筋虚血モデルを用い、無酸素下に交感神経終末から放出される Norepinephrine (NE) を指標に、ヒト虚血心筋に対して、ACE Inhibitor と AT₁ Receptor Blocker のどちらが有効かを比較検討することにある。実験には、人工心肺症例において切り出される右心耳の切片を使ったヒト心筋虚血モデルを用いた。70分間の anoxia の後、Carrier-Mediated NE Release が誘導される。この NE を HPLC にて測定した。Enalaprilat による ACE dependent pathway の阻害によっては、NE Release は有意に抑制されなかった。しかし Bradykinin (BK) B₂ Receptor Blocker との併用で NE Release は有意に抑制された。一方で、Chymostatin、Bowman-Birk inhibitor、 α_1 -antitrypsin らによる Chymase dependent pathway の阻害によって NE Release は有意に抑制された。また、Mast Cell stabilizer は、有意に NE Release を抑制した。AT₁ receptor Blocker は、NE Release を有意に抑制したが、AT₂ receptor Blocker は抑制しなかった。しかし、AT₂ receptor Blocker は AT₁ receptor Blocker の NE Release 抑制作用を有意に阻害した。さらに、AT₁ receptor Blocker と AT₂ receptor agonist の供役性が認められた。また、AT₁ receptor Blocker と Na⁺/H⁺ exchanger inhibitor の供役性も認められた。この結果より次のことが示唆される。1) ヒト虚血心筋では、Mast Cell から放出される Chymase が、ACE よりも重要な役割を演じている。2) Ang II は、交感神

経終末のAT₁ Receptorを介し、Na⁺/H⁺ Exchangerを刺激し、Carrier-mediated NE Releaseを惹起する。3) AT₁ ReceptorとAT₂ Receptorは、carrier-mediated NE releaseに関し逆の作用を有し、AT₂ Receptorの作用は、AT₁ Receptorが阻害された時のみ認められる。4) BKのNE Releaseへの寄与は、Ang IIの合成系が阻害された時のみ認められる。心筋虚血の際、交感神経終末から放出されるNEは、冠血管を収縮させ、致死的不整脈を惹起する。さらに虚血心筋ではMast Cellの集簇が認められる。心筋虚血後のMast Cell-Chymase-Ang II系の制御は、Carrier-Mediated NE Releaseを抑制し、臨床応用に有効だと考えられる。

学位論文の公開発表に際して、川口教授からは、実験後の標本の病理組織学的変化、標本を得た患者の疾患群、このモデルにおける局所のRenin-Angiotensin system、NEがarrhythmiaを惹起する機序、などに対する質問があった。次いで安田教授からは、Chymaseのspecificity、Mast Cell stabilizersの臨床応用の可能性に関する質問があった。北島教授からは、ELITE I studyとELITE II studyについて、またBK、ACE、ChymaseのNE Releaseに関する役割、AT₁ Receptorの阻害とAT₂ Receptorと刺激から得られるcardioprotectionなどについての質問があった。また傍聴席からは、循環器内科の岡本先生より、使用薬剤の組織移行性、標本を得た患者は、ACE Inhibitorを服用していたか、などの質問があった。これらの質問に対し、申請者は実験結果と蓄積された学識をもって、誠実にかつおおむね適切に回答しえた。

審査員一同は、申請者の豊富な学識に併せて、この研究が関連領域研究の進展に与える成果を評価し、申請者が博士（医学）を受けるのに十分な資格を有するものと判断した。