

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

Therapeutic Research (2004.08) 25巻8号:1665～1671.

酸化ストレスをめぐって
血管リモデリングと酸化ストレス

長谷部直幸

● Lecture 1

血管リモデリングと酸化ストレス

長谷部直幸

はじめに

すべての生活習慣病は「酸化ストレス病」の側面を有している。標的臓器障害である脳・心・腎合併症の各病態に共通するのは血管病としての背景であり、内皮障害を含む血管病変の予防と管理がこれらの病態に対する本質的な治療と考えられる。本シンポジウムでは、血管リモデリングにおける酸化ストレスに関するわれわれの基礎的検討を紹介する。

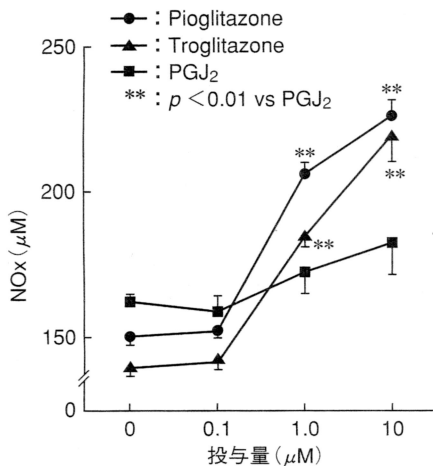


図1 サイトカイン (IL-1 β , IFN- γ) 存在下における NO 産生と pioglitazone, troglitazone, PGJ₂ の効果 (文献 19 より)

1 血管リモデリングにおけるサイトカイン・NO とアポトーシス¹⁹⁾

1) 培養平滑筋細胞における検討

培養血管平滑筋細胞では、サイトカイン (IL-1 β , IFN- γ) の添加によって NO 産生が増加する。インスリン抵抗性改善薬である thiazolidine 誘導体 (pioglitazone, troglitazone) は、それ自体では NO 産生に何ら影響をもたらさないが、サイトカインの存在下では NO 産生を爆発的に増強する (図 1)。この作用は、PPAR γ のリガンドである PGJ₂ には認められないため、PPAR γ を介さない作用であると考えられた。また、thiazolidine 誘導体によるこの NO 産生の

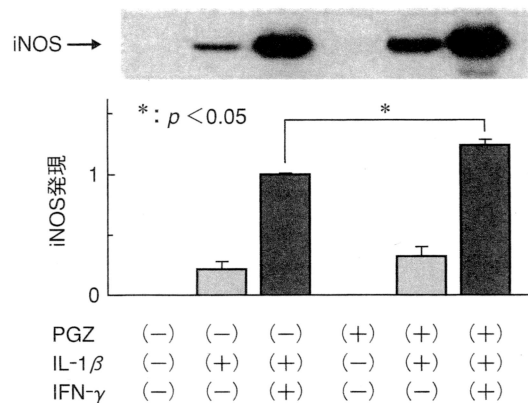


図2 サイトカイン (IL-1 β , IFN- γ) 存在下における iNOS 発現と pioglitazone (PGZ) の効果 (文献 19 より)

Key words : 血管リモデリング, 酸化ストレス, 生活習慣病

旭川医科大学第一内科

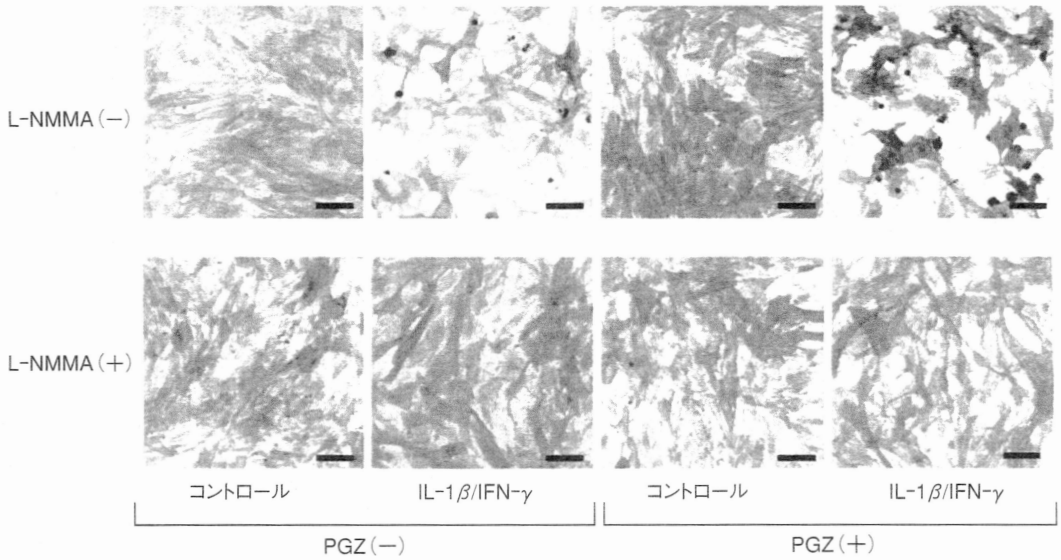


図3 培養血管平滑筋細胞におけるサイトカイン (IL-1 β , IFN- γ) による iNOS 依存性アポトーシスと pioglitazone (PGZ) による増強 (文献 19 より)

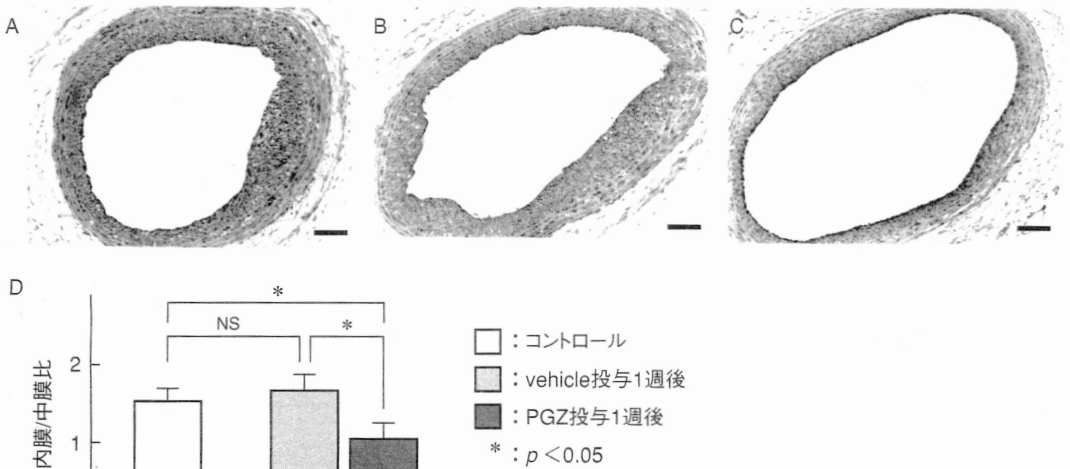


図4 バルーン傷害血管の内膜肥厚と pioglitazone (PGZ) による退縮効果 (文献 19 より)
A: control, B: vehicle, C: PGZ

増強は、iNOSの発現増強を伴うものであることが確認された。サイトカイン投与によって産生されたNOは、培養血管平滑筋細胞にTUNEL染色陽性のアポトーシスを誘導する(図2)。thiazolidine誘導体は、このアポトーシスをさら

に増強したが、NOS阻害薬であるL-NMMAの添加はこれをほぼ完全に抑制したことから、iNOS依存性の機序であることが明らかとなった(図2, 3)。

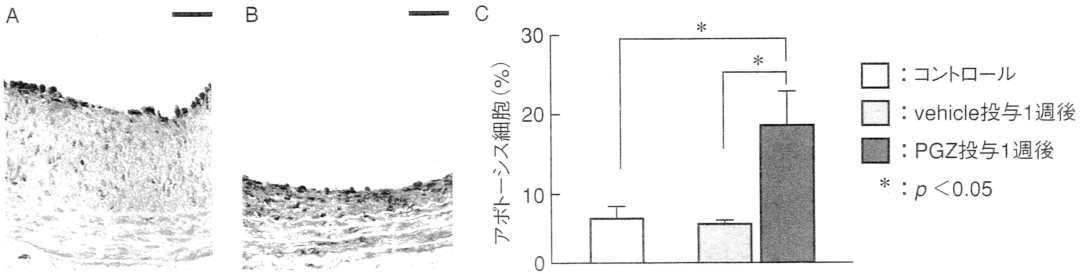


図5 バルーン傷害血管の内膜肥厚部におけるアポトーシスと pioglitazone (PGZ) による増強 (文献19より)
A: control, B: PGZ

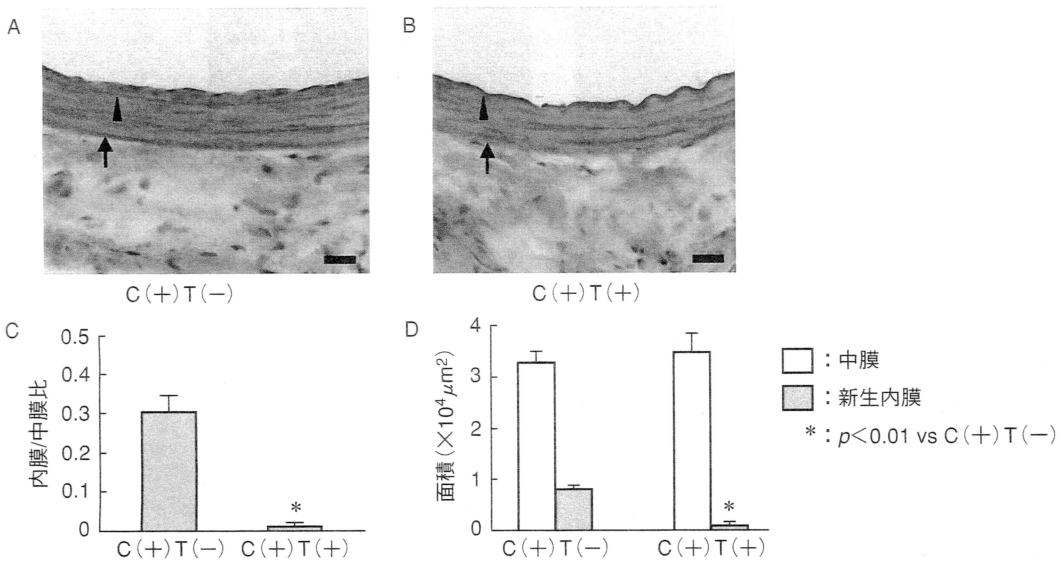


図6 カフ傷害 (C) 血管の新生内膜肥厚と温熱療法 (T) による抑制効果 (文献2より)

2) バルーン傷害血管モデルにおける検討¹⁹⁾

われわれは、培養血管平滑筋細胞におけるこの現象が、生体の血管リモデリング形成過程においていかなる作用を發揮するかに興味をもち、ラットのバルーン傷害血管モデルを用いてこの点を検討した。あらかじめ、傷害血管の新生内膜肥厚部には、サイトカインの産生亢進や、iNOSの発現増強が認められることを確認した。thiazolidine誘導体が新生内膜肥厚自体を抑制することは、すでに報告されているので、われわれは肥厚が成立した傷害後2週目から thiazolidine 誘導体を投与して新生内膜肥厚部の推移を検討した。追加1週間の経過により、vehicle投

与では内膜/中膜比がさらに増強したのに対して、thiazolidine誘導体投与では、明らかな肥厚の退縮が認められた(図4)。新生内膜部をssDNA抗体で免疫組織染色したところ、thiazolidine投与により退縮内膜部に著明なアポトーシスの発現を認めた(図5)。

すなわちインスリン抵抗性改善薬の thiazolidine誘導体は、NO産生の増強によるアポトーシス促進を介して血管リモデリングを抑制するものと考えられた。血管形成術後の再狭窄予防にthiazolidine誘導体の有効性が期待され、臨床的に新たな適応になるものと考えられた。

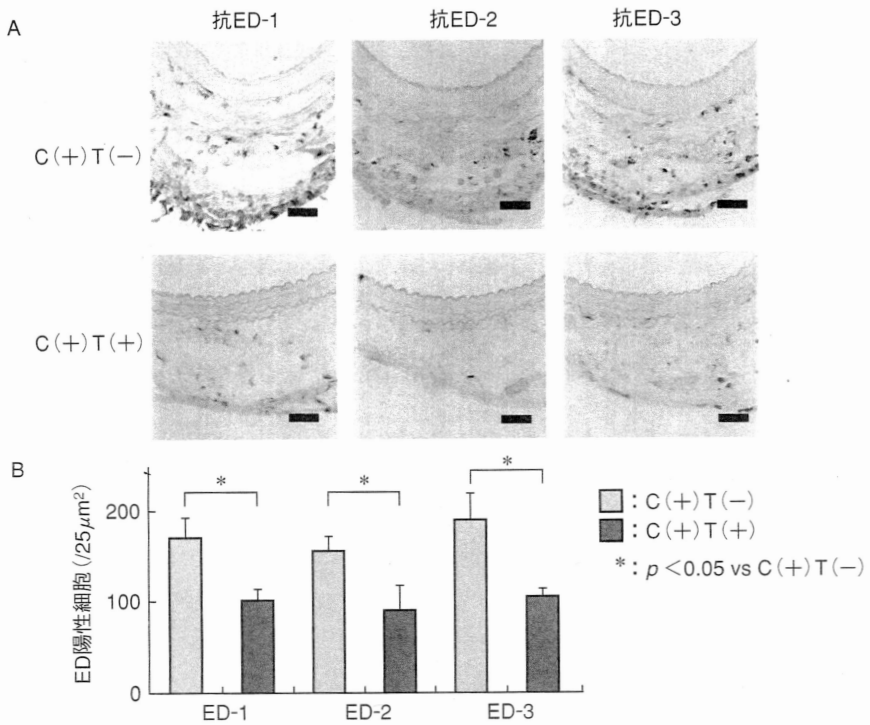


図7 カフ傷害(C)血管における単球・マクロファージの浸潤と温熱(T)による抑制効果(文献2より)

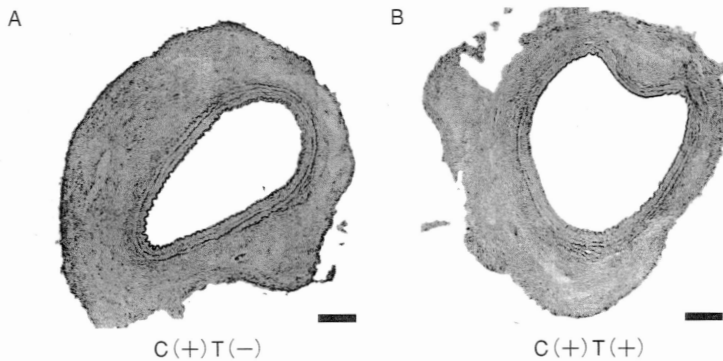


図8 カフ傷害(C)血管におけるMCP-1の発現と温熱(T)による抑制効果(文献2より)

2 カフ傷害血管モデルにおける新生内膜肥厚: 酸化ストレスと温熱療法

1) アンジオテンシン II による酸化ストレスと redox 制御

カフ傷害血管モデルは、動脈硬化の初期病変形成機序の検討に広く用いられている。ラット

のカフ傷害血管モデルにおいて、アンジオテンシンIIの持続負荷は、昇圧と酸化ストレスの増大をもたらしながら内膜・中膜肥厚を増強した。BSO投与によるGSH枯渇状態では、血管壁局所および多核白血球におけるROS産生が増強する。アンジオテンシンIIとBSOの併用は、酸化ストレ

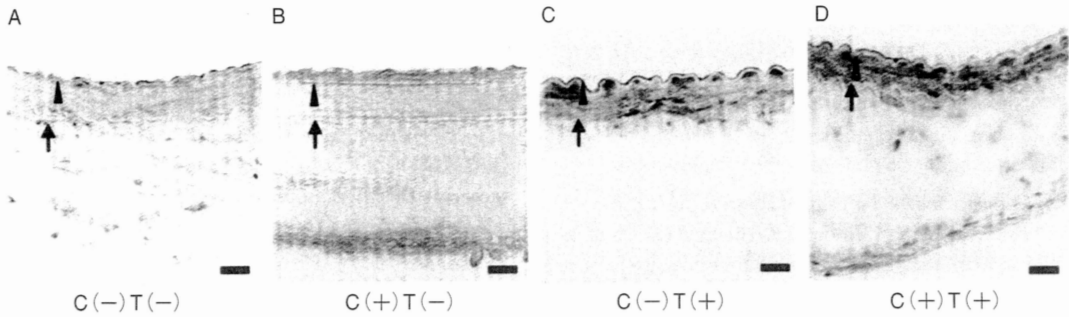


図9 カフ傷害 (C) 血管における温熱 (T) による HSP72 の発現増強効果 (文献2より)

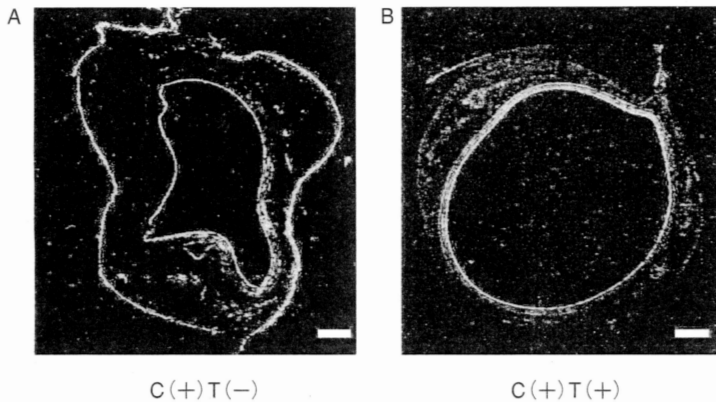


図10 カフ傷害 (C) 血管における p22-phox の発現と温熱 (T) による抑制効果 (文献2より)

スを相加的に増大させたが、内膜・中膜肥厚を有意に抑制した。このことは、redox制御の破綻による酸化ストレスの増大が血管リモデリングに対して必ずしも一様の作用を及ぼすものではないことを示唆するものである。

2) 酸化ストレスと温熱療法²⁾

温熱療法は血管局所に熱ショックタンパクの発現をもたらす。われわれはこの熱ショックタンパクと血管リモデリングの関連を検討した。ラットのカフ傷害血管モデルに対して、連日41°C15分の温熱療法を行ったところ、新生内膜増殖が有意に抑制された(図6)。傷害血管局所におけるED-1~ED-3陽性細胞の発現は抑制されており、単球・マクロファージの浸潤が抑制されることが示された(図7)。この過程で主要な役割を演ずるMCP-1の発現は、カフモデルでは

外膜側を中心に認められる。温熱療法はこれを有意に抑制した(図8)。温熱療法により内膜・中膜局所にHSP72の著明な誘導がもたらされ、カフモデルではさらに増強された(図9)。さらに血管壁における主要なROS産生酵素であるNAD(P)H oxidaseについて検討したところ、主要コンポーネントであるp22-phoxの発現は温熱療法によって有意に抑制された(図10)。すなわち温熱療法は、HSP72の発現と酸化ストレスの軽減を介して血管リモデリングを抑制することが示された。「湯治は動脈硬化に効く」ことの理論的裏付けになると考えられた。

おわりに

酸化ストレスに関するわれわれの基礎的検討から血管リモデリングに関する成績を紹介した。

今回、発表の機会を与えていただいた、三浦名誉教授、伊藤教授をはじめ組織委員会の諸先生に深謝申し上げます。

文 献

- 1) Ohta T, Hasebe N, Tsuji S, Izawa K, Jin YT, Kido S, Natori S, Sato M, Kikuchi K. Unequal effects of renin angiotensin system inhibitors in acute cardiac dysfunction induced by isoproterenol. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* [Epub ahead of print] 2004
- 2) Okada M, Hasebe N, Aizawa Y, Izawa K, Kawabe J, Kikuchi K. Thermal treatment attenuates neointimal thickening with enhanced expression of HSP72 and suppression of oxidative stress. *Circulation* 2004;109:1763-8.
- 3) Saito T, Fukuzawa J, Osaki J, Sakuragi H, Yao N, Haneda T, Fujino T, Wakamiya N, Kikuchi K, Hasebe N. Roles of calcineurin and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in pressure overload-induced cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 2003;35:1153-60.
- 4) Zhao C, Shuke N, Okizaki A, Yamamoto W, Sato J, Ishikawa Y, Ohta T, Hasebe N, Kikuchi K, Aburano T. Comparison of myocardial fatty acid metabolism with left ventricular function and perfusion in cardiomyopathies: by 123I-BMIPP SPECT and 99mTc-tetrofosmin electrocardiographically gated SPECT. *Ann Nucl Med* 2003;7:541-8.
- 5) Fujino T, Ishii Y, Takeuchi T, Hirasawa K, Tateda K, Kikuchi K, Hasebe N. Recovery of BMIPP uptake and regional wall motion in insulin resistant patients following angioplasty for acute myocardial infarction. *Circ J* 2003;67:757-62.
- 6) Uekita K, Hasebe N, Funayama N, Aoyama H, Kuroda K, Aizawa H, Kataoka R, Kikuchi K. Cervical and intracranial atherosclerosis and silent brain infarction in Japanese patients with coronary artery disease. *Cerebrovasc Dis* 2003;16:61-8.
- 7) Fujino T, Hasebe N, Kawabe J, Fujita M, Fukuzawa J, Tobise K, Kikuchi K. Effect of beta-adrenoceptor antagonist and angiotensin-converting enzyme inhibitor on hypertension-associated changes in adenylyl cyclase type V messenger RNA expression in spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003;41:720-5.
- 8) Ido A, Hasebe N, Takeuchi T, Kikuchi K. Effects of temocapril and olmesartan on myocardial sympathetic nervous activity and fatty acid metabolism in rats with chronic beta-adrenergic stimulation. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003;41:S133-7.
- 9) Natori S, Hasebe N, Jin YT, Matsusaka T, Ido A, Matsushashi H, Ihara T, Kikuchi K. Inhaled nitric oxide modifies left ventricular diastolic stress in the presence of vasoactive agents in heart failure. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:895-901.
- 10) Takeuchi T, Sato N, Kawamura Y, Takahashi F, Sato M, Kikuchi K, Akasaka N, Go K, Fujimoto K, Hasebe N. Short-coupled variant of torsades de pointes with electrical storm. *Pacing Clin Electrophysiol* 2003;26:632-6.
- 11) Takahashi F, Hasebe N, Chinda J, Okada M, Takeuchi T, Hirayama T, Imamoto C, Kikuchi K. A case of nephrotic syndrome associated with renovascular hypertension successfully treated with candesartan. *Hypertens Res* 2003;26:123-7.
- 12) Hasebe N, Kido S, Ido A, Kikuchi K. Reverse J-curve relation between diastolic blood pressure and severity of coronary artery lesion in hypertensive patients with angina pectoris. *Hypertens Res* 2002;25:381-7.
- 13) Koyama S, Sato N, Nagashima K, Aizawa H, Kawamura Y, Hasebe N, Iwasaki H, Kikuchi K. Effects of right stellate ganglion block on the autonomic nervous function of the heart: a study using the head-up tilt test. *Circ J* 2002;66:645-8.
- 14) Fujino T, Yuhki K, Yamada T, Hara A, Takahata O, Okada Y, Xiao CY, Ma H, Karibe H, Iwashima Y, Fukuzawa J, Hasebe N, Kikuchi K, Narumiya S, Ushikubi F. Effects of the prostanoids on the proliferation or hypertrophy of cultured murine aortic smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 2002;136:530-9.
- 15) Matsusaka T, Hasebe N, Jin YT, Kawabe J, Kikuchi K. Magnesium reduces myocardial infarct size via enhancement of adenosine mechanism in rabbits. *Cardiovasc Res* 2002;54:568-75.
- 16) Fukuzawa J, Nishihira J, Hasebe N, Haneda T, Osaki J, Saito T, Nomura T, Fujino T, Wakamiya N, Kikuchi K. Contribution of macrophage migration inhibitory factor to extracellular signal-regulated kinase activation by oxidative stress in cardiomyocytes. *J Biol Chem* 2002;277:24889-95.
- 17) Ohta T, Hasebe N, Tsuji S, Jin YT, Kido S, Natori S, Sato M, Kikuchi K. Effects of angiotensin converting enzyme inhibitor and angiotensin II type1 receptor blocker on cardiac dysfunction induced by isoproterenol in dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;38:S63-7.
- 18) Ido A, Hasebe N, Matsushashi H, Kikuchi K. Coronary sinus occlusion enhances coronary collateral flow and reduces subendocardial ischemia. *Am J*

- Physiol (Heart Circ Physiol) 2001;280:H1361-7.
- 19) Aizawa Y, Kawabe J, Hasebe N, Takehara N, Kikuchi K. Pioglitazone enhances cytokine-induced apoptosis in vascular smooth muscle cells and reduces intimal hyperplasia. *Circulation* 2001;104:455-60.
 - 20) Fujino T, Katou J, Fujita M, Ohta T, Harada T, Hasebe N, Kikuchi K. Relationship between serum lipoprotein (a) level and thrombin generation to the circadian variation in onset of acute myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2001;155:171-8.
 - 21) Zhao C, Shuke N, Yamamoto W, Okizaki A, Sato J, Ishikawa Y, Ohta T, Hasebe N, Kikuchi K, Aburano T. Comparison of cardiac sympathetic nervous function with left ventricular function and perfusion in cardiomyopathies by ¹²³I-MIBG SPECT and ^{99m}Tc Tetrofosmin electrocardiographically gated SPECT. *J Nucl Med* 2001;42:1018-24.
 - 22) Kawabe J, Aizawa Y, Takehara N, Hasebe N, Kikuchi K. Glucose modifies the cross-talk between insulin and the beta-adrenergic signaling system in vascular smooth muscle cells. *J Hypertens* 2000;18:1459-64.
 - 23) Natori S, Hasebe N, Jin Y, Matsusaka T, Ohta T, Tsuji S, Morihira M, Nakamura H, Ido A, Matsuhashi H, Kikuchi K. Effect of inhaled nitric oxide on cardiovascular response to catecholamine in heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;35:S55-60.
 - 24) Takehara N, Kawabe J, Aizawa Y, Hasebe N, Kikuchi K. High glucose attenuates insulin-induced mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 (MKP-1) expression in vascular smooth muscle cells. *Biochim Biophys Acta* 2000;1497:244-52.
 - 25) Ogawa Y, Haneda T, Hirayama T, Ide H, Obara A, Maruyama J, Morimoto H, Tanaka H, Kato J, Hayakawa T, Hasebe N, Kikuchi K. Effects of lisinopril and nitrendipine on urinary albumin excretion and renal function in patients with mild to moderate essential hypertension. *Hypertens Res* 2000;23:607-12.