

〔第2回吉岡博人記念総合医学  
研究奨励金受賞グループ研究発表〕

血管内皮由来血管収縮因子および拡張因子の病態生  
理学的意義に関する研究

|              |      |
|--------------|------|
| (第二内科学)      | 出村 博 |
| (脳神経センター)    | 高倉公朋 |
| (母子総合医療センター) | 武田佳彦 |
| (薬理学)        | 村木 篁 |
| (第二内科学)      | 成瀬光栄 |

血管内皮細胞はあらゆる組織に普遍的に分布し、種々の生理活性物質を産生することから、多様な生理学的、病態生理学的意義が示唆される。今回、特に血管収縮因子であるエンドセリンと血管拡張性ガス状物質について関連各科と共同研究を行った。

1. 高血圧におけるET-1の役割の解明

易卒中高血圧自然発症ラット(SHR-SP), DOCA食塩高血圧ラット, L-NAME誘発高血圧ラットの3種の高血圧モデルにおいて、組織中ET-1mRNA発現とET-1含量を検討した。その結果、正常血圧ラットと比較し各組織中ET-1遺伝子の発現(副腎×3, 腎臓×2, 脳×1.7, 肺×1.2, 心臓×1.5)およびET-1含量の増加を認めた。ET受容体拮抗薬であるTAK-044の皮下投与により、血圧と共に左室心筋重量、血清クレアチニン、血清アルドステロン濃度の低下を認めた。更に、アンジオテンシン変換酵素阻害薬であるderaprilにより組織中ET-1遺伝子発現は完全に正常化した。これらから高血圧の病態ではその機序に拘わらず組織中ET-1過剰産生が生じ高血圧と標的臓器障害を増悪させること、また、ET-1の過剰発現にはレニン・アンジオテンシンないしキニン・カリクレイン系の関与が示された。

2. 高血圧における一酸化窒素合成酵素(NOS)遺伝子の発現動態

NOは代表的な内皮由来血管弛緩因子である。高血圧においては内皮依存性血管弛緩反応の減弱、NO産生障害が指摘されているが、NO生合成のどの過程の障害かは不明である。そこでSHR-SPの各種組織における3種のNOS(nNOS, iNOS, eNOS)遺伝子発現をRNAase protection assayにて検討した。その結果、nNOSは主に小脳、大脳に、eNOSは心血管系を中心とした多様な組織に発現を認めたが、iNOSの発現は認めなかった。心臓ではin situ hybridizationにより血管内皮に加えて心筋細胞にもeNOS mRNAの発現を認めた。しかしながらSHR-SPの心血管系

eNOS mRNA発現は正常血圧ラットと比較してあるいは高血圧発症の前後で有意差を認めなかった。最近、ずり応力がeNOS発現を促進することが報告されていることから、高血圧ラットでは血行動態的負荷に対するeNOS遺伝子発現の障害が示唆された。

3. 血管壁CO産生系の証明

ガス状物質である一酸化炭素(CO)はNOと同様にguanylate cyclase/cGMP系を活性化して血管を拡張する。CO合成に関わるhemeoxygenase(HO)には、誘導型であるHO-1と構成型であるHO-2の2種が存在するが、心血管系における発現動態は不明である。そこでHO-1およびHO-2mRNAの発現動態をRNAase protection assayにて検討した。その結果、摘出血管組織、培養血管平滑筋細胞、血管内皮細胞いずれでもHO-1, HO-2mRNAの発現を認めたが、摘出血管ではHO-2が主要なアイソフォームであったのに対して培養細胞ではHO-1が主で、細胞の形質転換に伴うHOアイソフォームのスイッチを認めた。SHR-SPの血管壁ではNO産生系とは対照的にHO-2mRNAの発現亢進を認め、高血圧状態では血管壁CO合成系の機能が代償的に亢進していることが明らかになった。

4. 胎児・胎盤系におけるET-1とNO系の役割

妊娠中毒症に代表される胎盤循環不全におけるET-1, NOの役割を解明するため、妊娠ラットの一側子宮動脈を結紮して胎児低酸素症による子宮内発育遅延を作製、胎盤ならびに胎仔臓器(脳, 肝, 腎)のET-1遺伝子とeNOS遺伝子の発現を検討した。その結果、eNOSmRNAには有意な変化を認めなかったが、ET-1遺伝子発現は胎盤および高度の発育障害を示した肝、腎両組織中で対照の約1.5倍に増加しており、一方、障害の軽度な脳では有意な変化を認めなかった。ET-1の遺伝子発現が胎仔臓器の低酸素に伴う発育障害の程度と関連したことから、ET-1が妊娠中毒症における胎児・胎盤系の血流調節因子として重要な役割を担う可能性が示唆された。

5. クモ膜下出血におけるET-1の役割

クモ膜下出血に際して見られる脳血管攣縮におけるET-1の役割を明らかにするため、12例のクリッピング手術後、末梢血および血栓溶解療法のために側脳室に留置したOmmaya tubeから脳脊髄液を経時的に採取、ET-1濃度を測定した。その結果、脳血管攣縮を伴わない例では血中、髄液中ET-1濃度とも急性期に高値を示し、以後経過と共に漸減した。脳血管攣縮を伴

う例でも急性期に高値を示した後漸減したが、その後神経学的所見の増悪、脳血管攣縮の出現に先立って、特に髄液中 ET-1 濃度の有意な増加を認めた。このことから、クモ膜下出血後の脳血管攣縮に ET の関与が示唆された。

#### 6. ET-1 の非血管作用の証明

ET-1 はインスリン分泌の増加、血糖低下などの代謝作用を有する。そこでマウス培養褐色脂肪細胞において ET-1 が脂質代謝に及ぼす作用をリポ蛋白リパーゼ (LPL) を指標として検討した。その結果、ET-1 は LPL mRNA 発現量および LPL 活性を減少し、その作用は特異的 ETA 受容体拮抗薬にて阻害された。更に膜分画を用いた標識 ET 結合実験と RT-PCR により ETA の受容体の存在を証明しえた。これらから、ET-1 は ETA 受容体を介して褐色脂肪細胞の分化を抑制し、脂肪細胞の脂質含量を減少するなどの脂質代謝作用を有することが明らかになった。

以上の研究から血管内皮由来因子の作用と動態の多様性が明らかになると共にその不均衡が重大な病態生理学的意義を有する可能性が示唆された。

#### 〔特別講演〕

##### 視覚生理学研究の今昔

(第一生理学)

橋本葉子

研究者には、ある特殊な研究技法を種々な組織に應用するタイプと、研究対象は一定で種々な研究方法で攻めていくタイプがあるように思われるが、私は後者に属するタイプである。1956年に本学を卒業し、1年のインターンの後1957年から慶応大学医学部生理学教室にお世話になって以来、視覚生理学、特に網膜生理学の研究生生活に明け暮れる39年間であった。1957年頃はまだ現在のような研究機器がなかったので、高抵抗電極用の前置増幅器を初め、記録用機器(オシロスコープや光刺激装置など)の手作りから私の研究生生活は始まったのである。秋葉原通いは私の仕事で、当時は馴染みのお店も何軒かできていた。39年間の研究生生活の中で一番泣かされたのは微小電極の作製である。特に網膜を構成する細胞は小さいので、単一細胞の光応答を細胞内から記録するために用いられた硝子毛細管微小電極は、その尖端直径は0.1 $\mu$ m以下、シャンクの長さは20mm以上、電極抵抗は200M $\Omega$ 以上のものが必要という、当時としては非常に厳しい条件のものであった。これに電解質を充填するのであるが、このようにシャンクが長くなるとなかなか気泡が抜けず、そのた

めに100本の電極を引いて使用可能なのは10本くらい、電極作製にほぼ午前中が費やされるという状態であった。オメガドット型の硝子毛細管が市販されるようになりこの問題もやっと解決されたのである。電気生理学的研究、形態学的研究、顕微分光学的研究等、応用可能な種々な研究法およびそれに伴う研究機器の変遷に焦点を充ててこの39年間を振り返ってみたい。

#### 〔シンポジウム 心肺の内科〕

##### 心不全と呼吸筋不全：機序と対策

##### 1. 心不全の発生機序と対策

(循環器内科学)

島本 健

心不全とは“心臓が末梢組織の代謝に必要な心拍出を十分に供給できない病態生理学的状態またはそれに引き続く症候群”と定義されている。したがって心不全をきたす原因は心疾患に限られていない。心不全をきたす不全心は心筋収縮不全、心室収縮不全、心室拡張不全におおまかに分けられ、各病態・症状は心拍出低下に対する代償の進展・破綻の過程で生じる。神経体液因子亢進による直接あるいは心拍数・前負荷・後負荷の変化により心機能低下は代償されるが、やがて過代償となり心不全は悪化する。心不全症状は主に労作に耐えられない低心拍出および鬱血による(鬱血性心不全)。慢性の心不全では循環不全により肝腎等の各臓器は低機能状態にあり、過剰な末消血管抵抗の上昇のため骨格筋・呼吸筋の効率低下、肺高血圧をきたし運動能力が低下する。

心不全の治療は運動能力と長期予後の両者の改善を目的とするがその両立は難しく治療に難渋する。不全心による慢性心不全を治療する場合、基礎心疾患・心不全のタイプ・病期で異なり安静・食餌に加え利尿剤・血管拡張剤・強心剤を使い分けなくてはならない。運動能力を心拍出増加のみで改善しようとしたり、過度の利尿剤の使用は予後を不良とすることもある。現在のところ予後を改善し、かつ心機能を正常に保つ確実な治療法はないが、ACE阻害薬、 $\beta$ 遮断療法、新世代Ca拮抗薬、一部のPDE阻害薬に予後改善の効果が認められている。心不全は全身病としての認識が必要で診断・治療についても未だ過渡期にあるといえる。今回は心不全症候群をきたす不全心について若干の症例を提示しその発生機序と対策について述べる。

##### 2. 呼吸筋不全

(第一内科学)

吉野克樹

1) 呼吸筋不全とは：呼吸筋不全とは最大の吸気筋