

生活習慣病時における臓器間を繋ぐ血管機能に対する内皮細胞と 血小板の相互作用の解析

九州医療科学大学 薬学部 薬学科
教授 松本 貴之

(共同研究者)

九州医療科学大学 薬学部 薬学科 教授 鳥取部 直子
九州医療科学大学 薬学部 薬学科 准教授 長野 貴之

はじめに

糖尿病、高血圧症、脂質異常症といった生活習慣病は、中高年において罹患率の高い疾患であり、人口の高齢化も加わり心・血管関連イベントが急増している。これから少子高齢化社会を迎える我が国にとって、心・血管関連イベントに関わる動脈硬化病変をより早期に捉え、進展する前に予防・治療を行うことは、個人のQOLの向上という面のみならず医療経済面からも重要な課題である。近年では、動脈の硬化巣形成に先立ち、血管内皮細胞の機能障害が先行することが証明され、動脈硬化の発症・進展抑止のターゲットとされている。血管内皮細胞は、種々の内皮由来因子(弛緩・収縮因子)を放出し、血管緊張を巧妙に調節している^(1, 2)。弛緩因子として、太い動脈では一酸化窒素(NO)の寄与が大きく、径が小さくなるにつれ内皮由来過分極因子の寄与が大きくなるといったように、内皮由来因子による血管機能の調節は血管部位で異なることが明らかとされているが、生活習慣病時でのこれらの種類、産生・分泌量、シグナル伝達については不明な点が多く、血管機能に影響を及ぼす因子も多岐にわたり包括的な理解が血管を健やかにするために必要である。一方、血小板は、出血の際の止血が主な役割であるが、内皮細胞を維持するための物質の供給や、炎症、免疫、感染制御といった生体反応、動脈硬化の形成にも関与すると考えられている。そのため、血小板の機能、放出される物質の血管構成細胞への影響を知ることは、病態時における血管機能の理解に重要となる。血小板から分泌される物質の一つに、regulated-upon-activation normal T-cell expressed and secreted (RANTES)がある⁽³⁾。RANTESは、ケモカインとして知られているが血管機能に対する直接的な影響についてはほとんど分かっていない。そこで、本研究において、器官培養法を用いてRANTES長期処置による血管収縮・弛緩機能への影響について検討を行った。

結 果

雄性Wistarラット(日本 SLC、静岡)より頸動脈を摘出し、リング標本を作成した後、

RANTES (100 ng/mL) を含む培地 (RANTES)、不含有培地 (control) で約1日処置し、その後、オルガンバス法を用いて、頸動脈の機能、すなわち収縮及び弛緩反応を測定した。血小板から放出され、血管収縮を誘発するセロトニン並びにトロンボキサン_{A2} (トロンボキサン_{A2}アナログ、U46619) による収縮反応、高カリウムによる受容体を介さない収縮反応は、control群と RANTES群で同程度であった (図1)。アセチルコリン (ACh) による内皮依存性弛緩反応は、control群と比べ、RANTES群で減弱が認められ、一方、NO 供与体による内皮非依存性弛緩反応、ATP感受性カリウムチャネル活性化薬 (クロマカリム) による弛緩反応、大コンダクタンスカルシウム活性化カリウムチャネル活性化薬 (NS19504) による弛緩反応は、control群と RANTES群で同程度であった (図2)。ACh による弛緩反

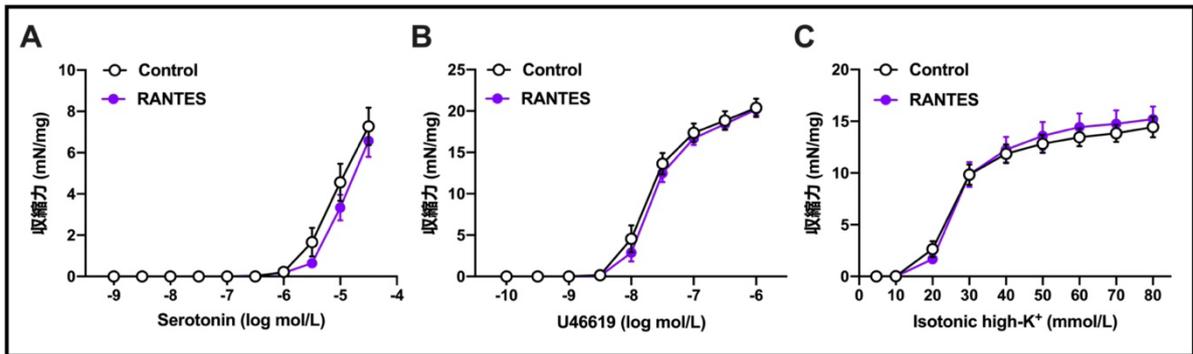


図1 ラット頸動脈収縮反応に対する RANTES 長期処置の影響

A: セロトニン収縮 (n = 8) B: トロンボキサン_{A2} アナログ収縮 (n = 7) C: 高カリウム収縮 (n = 8)

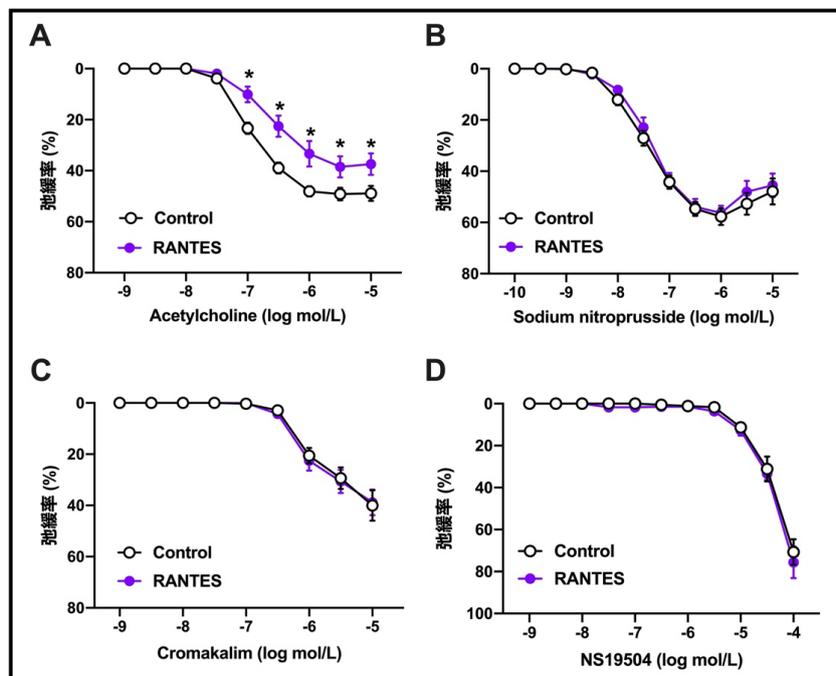


図2 ラット頸動脈弛緩反応に対する RANTES 長期処置の影響

A: アセチルコリン弛緩 (n = 9) B: NO 供与体弛緩 (n = 9)

C: K_{ATP} チャネル活性化薬弛緩 (n = 9) D: BK_{Ca} チャネル活性化薬弛緩 (n = 7)

*p < 0.05 vs. Control.

応は、NO合成酵素阻害薬存在下で完全に消失すること、また、シクロオキシゲナーゼ阻害薬存在下においてAChによる弛緩反応は、control群とRANTES群で差が認められなくなることが明らかとなった。さらに、抗酸化物質であるN-アセチル-L-システインを RANTESと共培養したところ、RANTES群と比較し、ACh誘発弛緩反応の増大が認められた(図3)。

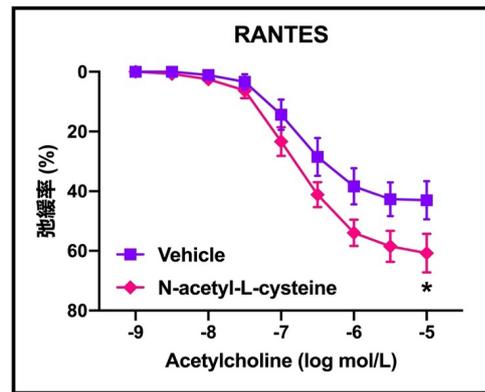


図3 ラット頸動脈弛緩反応に対する RANTES ならびに抗酸化物質共処置の影響
RANTES + N-アセチル-L-システイン or vehicle 共培養頸動脈標本におけるアセチルコリン弛緩 (n=9) *p < 0.05 vs. Vehicle.

考 察

RANTESは、様々な細胞に影響を及ぼし、血管機能に間接的に作用する可能性がある。器官培養法は、血管機能を維持したまま、血管構成細胞に対する物質の影響を評価できる方法である^(4, 5)。この方法によりRANTESの血管機能への直接的な影響を評価した。RANTESの長期処置により、収縮反応には影響せず、AChによる内皮依存性弛緩反応を減弱させること、これには、酸化ストレスによるNOバイオアベイラビリティの低下や、血管収縮性プロスタノイド、酸化ストレスが関与する可能性が示された(図4)⁽⁶⁾。今後、さらなる分子機序の解明を進めるとともに、将来的には、糖尿病や高血圧時における血小板からのRANTES放出量、動脈部位別の血管機能障害との関連性の検証を進めたい。

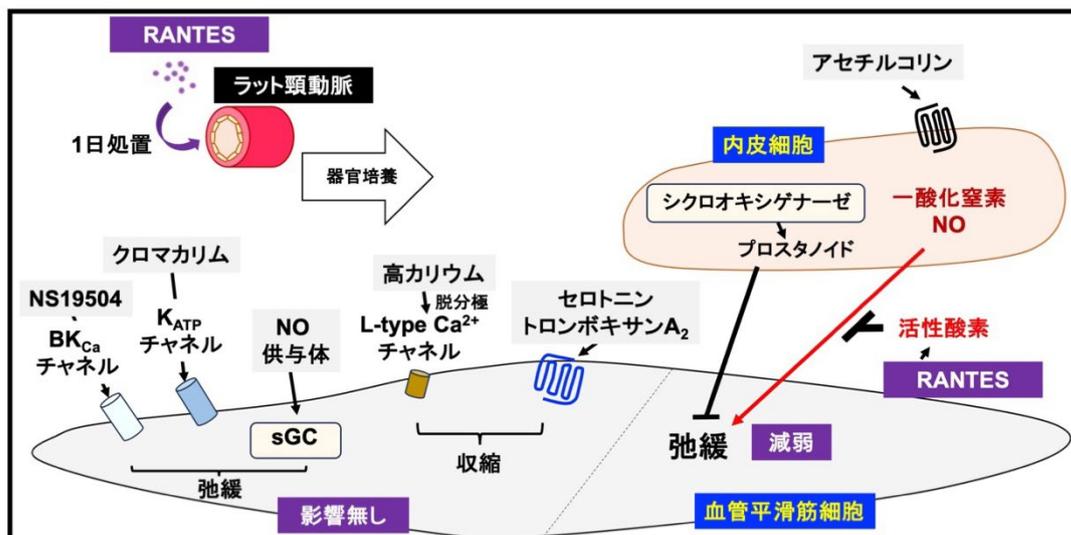


図4 ラット頸動脈を用いた血管機能に対する RANTES 長期処置の影響

要 約

RANTESの血管機能に対する直接的な影響について、器官培養法を用いてラット頸動脈にて検討したところ、各種血管収縮物質による収縮反応には影響を及ぼさなかったが、ACh誘発内皮依存性弛緩反応を減弱させることが明らかとなった。この減弱の機序として、酸化ストレス増大に伴うNOバイオアベイラビリティーの低下が一因となっていることが示唆された。今後も引き続いて、分子機序を明らかにするとともに、他の動脈を用いた検証や、疾患モデル動物における検証、血小板から遊離されるRANTES量の解析を行い、病態下における血小板、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞のクロストークの包括的理解、生活習慣病時における血管機能障害における血小板の役割を検証していく。

文 献

1. Matsumoto T, Gouloupoulou S, Taguchi K, Tostes RC, Kobayashi T. Constrictor prostanoids and uridine adenosine tetraphosphate: vascular mediators and therapeutic targets in hypertension and diabetes. *Br. J. Pharmacol.* 172: 3980-4001 (2015)
2. Vanhoutte PM, Shimokawa H, Feletou M, Tang EH. Endothelial dysfunction and vascular disease – a 30th anniversary update. *Acta. Physiol.* 219: 22-96 (2017)
3. Bakogiannis C, Sachse M, Stamatelopoulos K, Stellos K. Platelet-derived chemokines in inflammation and atherosclerosis. *Cytokine.* 122: 154157 (2019)
4. Ando M, Matsumoto T, Taguchi K, Kobayashi T. Poly (I:C) impairs NO donor-induced relaxation by overexposure to NO via the NF-kappa B/iNOS pathway in rat superior mesenteric arteries. *Free Radic. Biol. Med.* 112: 553-566 (2017)
5. Matsumoto T, Takayanagi K, Kojima M, Taguchi K, Kobayashi T. Mechanisms underlying suppression of noradrenaline-induced contraction by prolonged treatment with advanced glycation end-products in organ-cultured rat carotid artery. *Pflugers. Arch.* 472: 355-366 (2020)
6. Matsumoto T, Nagano T, Tanaka-Totoribe N. Effect of RANTES on vascular contractile and relaxant responses in rat carotid arteries. *Biol. Pharm. Bull.* In press.