核内受容体ＰＰＡＲ作動薬の血管平滑筋細胞機能に及ぼす影響

町田　拓自［北海道医療大学薬学部／助教］

背景・目的

核内受容体であるペルオキシソーム増殖薬活性化受容体（PPAR）作動薬が高血圧や動脈硬化症をはじめとする循環器疾患に有効であることが明らかになりつつある。その作用機序に血管構成細胞への直接的な関与が考えられている。本研究では、脳卒中易発症高血圧自然発症ラット（SHRSP）と正常血圧のウィスター京都ラット（WKY）における血管でのPPAR発現量の比較および血管平滑筋細胞機能に及ぼすPPAR作動薬の影響を検討し、血管平滑筋細胞でのPPARの機能の一端を明らかにすると共に、PPAR作動薬の新たな薬理作用を明らかにすることを目的とした。

内容・方法

（1）胸部大動脈におけるPPAR発現の検討

6、13及び20週齢のSHRSP及びWKYをエーテル麻酔後放血致死させ、胸部大動脈を摘出し、リアルタイムRT-PCR法にてPPAR mRNA発現を検討した。

（2）スフィンゴシン 1-リン酸（S1P）刺激による血管平滑筋細胞機能変化に及ぼすPPAR作動薬の影響に関する検討

ウィスターラットの胸部大動脈より酵素法により血管平滑筋細胞を単離し、培養した。細胞膜上のS1P受容体発現は、リアルタイムRT-PCR法にて検討した。また血管平滑筋細胞におけるS1P刺激によるシクロオキシゲナーゼ（COX）-2発現に及ぼすPPAR作動薬の影響をWestern blot法及びRT-PCR法にて検討した。S1Pによる細胞増殖作用に及ぼすPPAR作動薬の影響は培養開始後2日目に薬物を添加した培地に換え、6日間培養後、生存細胞のみを細胞計数板にて計数し検討した。

結果・成果

（1）胸部大動脈におけるPPAR発現の検討

6週齢のSHRSP由来胸部大動脈においてPPARα及びPPARγ mRNA発現が有意ではないもののWKYと比較して増加している傾向が認められた。PPARδ mRNA発現は6、13及び20週齢すべてにおいてSHRSPとWKYの間で大きな差は認められなかった。また13及び20週齢の胸部大動脈におけるPPARα及びPPARγ mRNA発現もSHRSPとWKYの間に大きな差は認められなかった。

（2）S1P刺激による血管平滑筋細胞機能変化に及ぼすPPAR作動薬の影響に関する検討

S1Pは多様な生理活性を持つ脂質メディエーターであり、血管平滑筋細胞でも細胞内カルシウムイオンの流入、細胞増殖、COX-2発現誘導作用などを持ち、血管障害部位において病態の進展および回復の両面に関与していると考えられている。そこでまず、PPAR作動薬が血管平滑筋細胞上のS1P受容体発現に何らかの影響を与えてS1Pによる血管平滑筋細胞の機能に変化を与えている可能性を考え、検討を行った。しかし、細胞をPPARα作動薬のフェノフィブラート及びPPARγ作動薬のシグリチゾンで処理しても血管平滑筋細胞上のS1P受容体発現に大きな影響は認められなかった。次にCOX-2発現に及ぼすPPAR作動薬の影響を検討したところ、フェノフィブラート、シグリチゾンともにS1P刺激によるCOX-2発現を濃度依存的に有意に抑制した。またシグリチゾンはホルボールエステル刺激によるCOX-2発現も有意に抑制した。一方、シグリチゾン処理はインターロイキン-1β刺激によるCOX-2発現を増強させる傾向を示し、セロトニン刺激によるCOX-2発現にはシグリチゾン処理の影響は認められなかった。なお、フェノフィブラート、シグリチゾンとも単独処理では、COX-2発現を誘導しなかった。次にS1P刺激による細胞増殖に及ぼすシグリチゾンの影響を検討した。細胞を6日間、S1Pもしくはシグリチゾンで処理するとシグリチゾン単独処理では、細胞数に影響は認められなかったが、S1P単独刺激により細胞数は有意に増加した。シグリチゾンをS1Pと同時に処理した細胞では、この細胞数増加作用が有意に抑制された。また、S1P刺激により細胞増殖因子の一つであるERKはリン酸化されたが、このリン酸化にシグリチゾンは影響を与えなかった。

今後の展望

本研究では、高血圧発症直前もしくは直後と考えられる6週齢のSHRSPの胸部大動脈でPPARα及びγmRNA発現が増強している傾向が認められた。今後、これらの蛋白質発現を検討する必要があると考えられる。またPPAR作動薬は血管平滑筋細胞においてS1P刺激によるCOX-2発現および細胞増殖作用を抑制した。しかし、PPARγ作動薬はCOX-2発現を誘導する物質により異なる作用を示したことから、さらに詳細な作用機序を検討する必要があると考えられた。