

## 木下 博之氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

apocynin のマクロファージ活性抑制作用を介した動脈硬化進展抑制効果の解析  
(Apocynin suppresses the progression of atherosclerosis via inactivation of macrophages)

粥状動脈硬化初期病変の発症進展は組織の慢性炎症反応の一種と考えられ、慢性炎症反応の誘因として活性酸素種 (ROS) の関与が示唆されている。NADPH オキシダーゼ由来 ROS が動脈硬化発症進展に関与していると考えられる。また酸化低比重リポ蛋白質 (酸化 LDL) によるマクロファージ (Mφ) 増殖が動脈硬化進展に関与すると報告されている。本研究は、NADPH オキシダーゼ阻害薬である apocynin の動脈硬化進展抑制効果、その機序として Mφ に対する抗動脈硬化作用を検討したものである。

動脈硬化モデルマウスとして apoE 欠損マウスを用い、6 週齢のマウスに apocynin (100mg/kg/day) を 10 週間経口投与し、動脈硬化進展への影響をオイル染色に加え免疫組織学的に検討した。また抗 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) 抗体を用いて病変部の酸化度の変化を、また抗 PCNA 抗体にて Mφ の増殖能の変化を観察した。大動脈での炎症サイトカイン発現は RT-PCR 法を用いて検討を行った。in vitro の検討での細胞はマウス腹腔 Mφ を用い、Mφ の増殖は [H3] チミジン取込み法を用い、また細胞内 ROS 産生は H2DCF-DA を用い検討した。その結果、(1) apocynin は ApoE 欠損マウスの動脈硬化病変の進展を抑制した。(2) apocynin は動脈硬化病変部において ROS 産生を抑制した。(3) apocynin は大動脈壁において、MCP-1 mRNA、TNF- $\alpha$  mRNA、IL-6 mRNA それぞれの発現を抑制した。(4) apocynin は Mφ において酸化 LDL 添加により誘導される MCP-1 mRNA、TNF- $\alpha$  mRNA、IL-6 mRNA それぞれの発現を抑制した。(5) apocynin は酸化 LDL による Mφ 増殖を抑制した。(6) apocynin 投与は、抗 PCNA 陽性 Mφ 数の減少を誘導した。

これらの研究から、apocynin は動脈硬化病変部での ROS 産生抑制、炎症性サイトカインの発現抑制、Mφ 増殖抑制効果を発揮することにより動脈硬化病変の発症進展に対して抑制的に働く可能性が示唆された。apocynin およびその類似化合物は、今後の動脈硬化性疾患の新規治療薬になる可能性を秘めていると結論された。

審査の過程で、apocynin の血管内皮細胞に対する効果、動脈硬化が進展した粥種での apocynin の抗動脈硬化作用、apocynin の血圧への影響、apoE 欠損マウスの血清脂質値、apoE 欠損マウスの酸化 LDL 産生状態、動脈硬化巣浸潤 Mφ 数が apocynin の影響を受けていないことの解釈、細胞内の ROS 産生部位、apocynin の臨床薬、臨床で使用されている抗酸化剤、抗酸化剤の大規模臨床試験などについて質問がなされ、申請者からほぼ適切な回答がなされた。本研究は、apocynin の抗動脈硬化作用とその機序を明らかにした有意義な研究であると評価された。

審査委員長 心臓血管外科学担当教授

川 筋道雄