

氏 名	下里 貴
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博士乙第423号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成28年 3月 10日
学位論文題目	Chronic administration of nicotine-free cigarette smoke extract impaired endothelium-dependent vascular relaxation in rats via increased vascular oxidative stress  (ニコチン除去タバコ煙抽出物のラットへの慢性投与は酸化ストレスの増大を介して内皮依存性血管弛緩反応を障害した)
審査委員	主査 教授 寺田 智祐 副査 教授 小島 秀人 副査 教授 久津見 弘

## 論文内容要旨

*整理番号	427	(ふりがな) 氏名	しもきよ たかし 下里 貴
学位論文題目	Chronic administration of nicotine-free cigarette smoke extract impaired endothelium-dependent vascular relaxation in rats via increased vascular oxidative stress (ニコチン除去タバコ煙抽出物のラットへの慢性投与は酸化ストレスの増大を介して内皮依存性血管弛緩反応を障害した)		
<p>【目的】喫煙は循環器疾患や動脈硬化の危険因子の一つであり、動脈硬化の初期段階で生じる血管機能の低下を引き起こすことが知られている。タバコ煙に含まれる有害物質の一つとしてニコチンが広く知られているが、近年、ニコチン以外の物質についても検討が進み、生体への影響に関して多くの情報が集積されている。しかし、ニコチンを除いたタバコ煙の心血管機能に及ぼす影響は未だ明らかでない。そこで、我々はニコチンを除去したタバコ煙抽出物 (CSE) を作成し、ラットを用いて心血管機能に与える影響を検討した。</p> <p>【方法】市販のタバコ (フロンティアライト、日本たばこ産業株) 3本分の主流煙を、ケンプリッジフィルターを通過させてニコチンを除去した後、リン酸緩衝液 (PBS) 1ml で抽出ことにより CSE を作製した。6週齢の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに CSE (0.05~1.5 mL/day) を4週間連日皮下投与し、CSE 投与4週後に麻酔下で胸部大動脈を摘出してマグヌス法により各種血管作動薬に対する血管反応性を測定した。対照ラットには、PBS を投与した。一部のラットについては、胸部大動脈摘出前に麻酔下で血圧及び心機能を測定した。他方、CSE の急性血管作用を検討する目的で、正常ラットから摘出した胸部大動脈を用い、マグヌス管内で0.05から0.5%のCSEに30分間暴露した後に血管反応性を観察した。</p> <p>【結果】</p> <p>① 慢性投与による CSE の効果</p> <p>1) CSE の投与量について</p> <p>CSE (0.05, 0.15, 0.5, 1.5 mL/day) を4週間連日皮下投与したラットから摘出した血管では、アセチルコリン (<math>10^{-5}</math> M) による弛緩は、0.15~1.5 mL/day の用量で PBS 投与群と比較して有意に減弱し、同作用は 0.5 mL/day の用量で最大であった。一方、一酸化窒素供与体 (NO ドナー) であるニトロプルシッドナトリウム (<math>10^{-8}</math> M) による弛緩は、いずれの用量においても PBS 投与群との間に差は認められなかった。</p> <p>以降、アセチルコリンによる弛緩の減弱が最大であった 0.5 mL/day の用量を用いて慢性投与による CSE の効果を検討した。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続 紙)

### 2) CSE 慢性投与による血圧及び心機能に及ぼす効果

CSE (0.5 mL/day) を 4 週間連日皮下投与した結果、ラットの収縮期血圧、平均血圧、拡張期血圧及び左室収縮期圧は僅かではあるが有意に上昇した。一方、心拍数、左室圧一次微分最大値 (dP/dt max) 及び最小値 (dP/dt min) は PBS 投与群との間に有意差はなかった。

### 3) CSE 慢性投与による血管反応性に及ぼす効果

CSE (0.5 mL/day) 慢性投与ラットから摘出した血管におけるアセチルコリン及びカルシウムイオノフォアールによる弛緩は、PBS 投与群に比べて有意に減弱した。なお、内皮を除去した血管では CSE 投与群及び PBS 投与群のいずれのラットにおいても同弛緩は消失した。アセチルコリンによる弛緩は NO 合成酵素阻害薬である L-NA ( $10^{-4}$  M) の前処置でも消失したことから、同弛緩は内皮由来の NO を介すると考えられた。一方、ニトロプルシッドナトリウムによる弛緩は、PBS 投与群と CSE 投与群の間で有意差は認められず、内皮を除去した血管でも同程度の弛緩が観察された。CSE 投与群で観察されたアセチルコリンによる弛緩の減弱は、マグヌス管内にスーパーオキシドジスムターゼ (200 IU/mL) を添加することで回復した。また、CSE 投与はフェニレフリン、アンジオテンシン II 及び塩化カリウムによる血管収縮には影響を及ぼさなかった。

### ② CSE の血管反応性に対する直接作用

無処置の正常ラットから摘出した血管に、CSE を 0.05 から 0.5% の濃度で急性暴露したが、いずれの濃度においてもアセチルコリン及びニトロプルシッドナトリウムによる弛緩に影響を及ぼさなかった。

【考察】ニコチンを除いたタバコ煙の水溶性成分抽出物である CSE をラットに慢性投与すると、軽度な血圧上昇と共に内皮依存性血管弛緩反応の減弱が観察された。

内皮依存性血管弛緩の減弱は、スーパーオキシドジスムターゼ添加により回復したことから、スーパーオキシドの増大が同弛緩の減弱に関与していると考えられた。タバコ煙には活性酸素など内皮機能を障害する物質を含有しているが、CSE の急性暴露は血管反応性に影響を及ぼさなかったことから、スーパーオキシドは CSE 慢性投与ラットの血管壁において内因性に産生されたものと考えられた。

CSE 投与により、血管内皮の NO 産生を介したアセチルコリンによる弛緩が減弱した一方で、NO ドナーによる弛緩には影響が認められなかったことから、CSE 投与は、内皮の NO 産生あるいは内皮から放出された NO の安定性に影響を及ぼしたものであり、平滑筋の NO に対する反応性に影響を与えたものではないと考えられた。

【結論】ニコチンを除いたタバコ煙の水抽出成分の慢性投与は、血管壁からのスーパーオキシド産生増加を介して内皮機能を障害することが明らかとなった。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	427	氏名	下里 貴
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (別添付表に記入し、この表に添付して作成すること。)</p> <p>喫煙は循環器疾患や動脈硬化の危険因子の一つである。これまで、ニコチンに関する知見は多く集積されてきたが、ニコチンを除いたタバコ煙の心血管機能に及ぼす影響については、情報が乏しかった。申請者は、ニコチンを除去したタバコ煙抽出物 (CSE) を作成し、<i>in vivo</i> 及び <i>in vitro</i> の両側面から心血管機能に与える影響を検討し、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) CSE 慢性投与により、血圧及び左室収縮期圧が上昇し、左室拡張期圧に変化は認められなかった。</li> <li>2) CSE 慢性投与は、アセチルコリンによる血管弛緩を減弱させ、弛緩の減弱は SOD 添加で回復した。</li> <li>3) CSE 慢性投与は、NO ドナーによる血管弛緩に影響を及ぼさず、血管平滑筋に基質的な影響も及ぼさなかった。</li> <li>4) CSE の急性暴露は、アセチルコリン及び NO ドナーによる血管弛緩に、いずれも影響を及ぼさなかった。</li> <li>5) 以上の知見を基に、CSE の慢性投与は、血管壁からのスーパーオキシド産生増加を介して内皮機能を障害することを明らかにした。</li> </ol> <p>本論文は、CSE の心血管機能に及ぼす影響について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 531 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 28 年 1 月 26 日)</p>			