HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Linoleic acid attenuates endothelium-derived relaxing factor production by suppressing cAMP-hydrolyzing phosphodiesterase activity

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-02 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: ⊠, 嘉章 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/2772

博士（医学）　　韦　嘉章

論文題目

Linoleic acid attenuates endothelium-derived relaxing factor production by suppressing cAMP-hydrolyzing phosphodiesterase activity

(リノール酸は cAMP 加水分解型ホスホジエステラーゼ阻害を介して内皮由来血管弛緩因子産生を抑制する)

論文の内容の要旨

[はじめに]

血液中の遊離脂肪酸の上昇が内皮依存性血管拡張を障害し、メタボリックシンドロームを有する患者の心血管イベント発症の原因となっている。近年、リノール酸が単球遊走を刺激することや、動脈硬化発症に関与する細胞接着因子(MCP-1 や VCAM-1)の発現を促進することが報告された。このような細胞接着因子は内皮由来血管弛緩因子(EDRFs; endothelium-derived relaxing factors)により制御されている。以上の知見から、リノール酸による MCP-1 や VCAM-1 の発現の背景には EDRFs の産生抑制が関与している可能性が考えられた。しかしながら、EDRFs の産生に対する脂肪酸(リノール酸を含む各種脂肪酸)の作用については現在も一定の見解が得られていない。この研究の目的は、初代培養の大動脈内皮細胞を用い、カルシウム依存性 EDRF 産生系に対する各種脂肪酸の作用を明らかにすることである。

[材料ならびに方法]

ブタ大動脈内皮細胞(PAECs; porcine aortic endothelial cells)はブタ下行大動脈の内膜より分離採集した。初代培養 PAECs における細胞内カルシウム濃度や一酸化窒素(NO; nitric oxide)産生は、それぞれ fura-2/AM と DAF-FM/DA を用いた蛍光色素測定法により測定した。プロスタグランジン I_2(PGI_2; prostaglandin I_2)産生は、6 ケトプロスタグランジン $F_{1\alpha}$ を酵素免疫法で測定することにより評価した。細胞内環状アデノシン一リン酸(cAMP; cyclic adenosine monophosphate)の産生も酵素免疫法を用い測定した。cAMP および cGMP 加水分解型ホスホジエステラーゼ(PDE; phosphodiesterase)の活性は、サイクリックヌクレオチド PDE アッセイキットを用い評価した。

[結果]

ヒト血清中の主な遊離脂肪酸の中で、リノール酸(0.1-5 μmol/L)のみがブラジキニン誘発性の NO および PGI_2 産生を濃度依存的に抑制した。内皮細胞内 NO および PGI_2 産生は細胞内カルシウム濃度により制御されているが、リノール酸はブラジキニンが惹起する細胞内カルシウム応答を抑制した。このリノール酸のカルシウム応答抑制作用はアデニル酸シクラーゼ抑制剤の SQ22536 により減弱され、細胞膜通過性の 8 ブロモ cAMP はリノール酸と同様のカルシウム応答抑制作用を示した。また、リノール酸が細胞内 cAMP レベルを濃度依存的に上昇させることが確認された。更に、内皮細胞内カルシウム応答に対するリノール酸の抑制作用は cAMP 加水分解型 PDE 抑制剤のロリプラムにより増強され、in vitro 実験においてリノール酸が選択的に cAMP 加水分解型 PDE 活性を抑制することが確認された。これに対し、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸といった他の遊離脂肪酸は、ブラジキニン誘発性の EDRF 産生やカルシウム応答に影響を与えず、細胞内

cAMP レベルも増加させなかった。

[考察]

血清遊離脂肪酸濃度の上昇と血管内皮機能不全および心血管疾患との関連性が報告されてきた。しかしながら、内皮機能に対する個々の脂肪酸の作用については解明されていなかった。近年の臨床試験において、血中リノール酸濃度の高値が冠動脈イベント発症の独立したリスク因子であること明らかにされた。更に、臨床試験でも、飽和脂肪酸をリノール酸に置き換えた食餌療法が冠動脈疾患や心血管疾患による死亡率を上昇させたことが報告された。本研究では、ヒト血清中の主要遊離脂肪酸の中でリノール酸のみが大動脈内皮細胞における EDRF 産生を抑制し、他の遊離脂肪酸は EDRF 産生に影響を及ぼさないことが明らかとなった。更に、我々はこのリノール酸の EDRF 産生抑制経路についても検討した。リノール酸は内皮細胞内カルシウム応答を減弱することにより EDRF 産生を抑制するが、このカルシウム応答の抑制は、リノール酸が cAMP 加水分解型 PDE を選択的に抑制することによって生じる細胞内 cAMP の貯留によるものと考えられた。

[結論]

以上の結果より、リノール酸は、cAMP 加水分解型 PDE 活性を抑制することにより内皮細胞内 cAMP を貯留させ、さらに、貯留した cAMP が細胞内カルシウム応答を減弱するために EDRF 産生を抑制することが示された。