

北里大学大学院獣医学系研究科

博士課程学位論文審査の結果と最終試験の成績

2022年2月17日

学位論文題目

真核生物伸長因子 2 キナーゼ (eukaryotic elongation factor 2 kinase) を標的とした循環器疾患治療薬の探索

氏名	兒玉 朋子	所属	獣医学専攻 獣医薬理学
----	-------	----	-------------

審査委員	主査	北里大学	教授	久留主 志朗
------	----	------	----	--------



	副査	北里大学	教授	佐々木 宣哉
--	----	------	----	--------



	副査	北里大学	准教授	鎌田 亮
--	----	------	-----	------



	副査	岡山理科大学	講師	向田 昌司
--	----	--------	----	-------







審査の結果

合格

最終試験の成績

優

論文審査の要旨および担当者

学位申請者	兒玉 朋子 (DV18004 獣医薬理学)		
学位論文題目	真核生物伸長因子 2 キナーゼ (eukaryotic elongation factor 2 kinase) を標的とした循環器疾患治療薬の探索		
担当者	主査	北里大学	教授 久留主 志朗 
	副査	北里大学	教授 佐々木 宣哉 
	副査	北里大学	准教授 鎌田 亮 
	副査	岡山理科大学	講師 向田 昌司 

論文審査の要旨

蛋白質翻訳過程の伸長因子 eukaryotic elongation factor 2 (eEF2) をリン酸化し不活化する酵素に eEF2 kinase (eEF2K) が存在する。本学獣医薬理学研究室内の研究結果として、eEF2K の選択的阻害薬 A484954 の長期間投与が肺動脈壁のリモデリングを阻害することで肺高血圧症の病態進展を抑えることが、ラットモデルで明らかにされている。一方、褐色細胞種や妊娠高血圧症、肺水腫を伴う左心不全では急激な血圧上昇と急性の臓器障害を特徴とする高血圧緊急症を呈し、これら急性高血圧症は心臓、脳、腎臓などの臓器に急速な致命的障害をもたらすことから発症時には数時間以内の降圧治療が求められる。本学位論文は、この急性高血圧症の発症抑制を企図して、A484954 の急性投与の効果以下を以下の 4 点、正常血圧の Wistar ラット (第 1 章) と高血圧症モデルラット (spontaneously hypertensive rat: SHR) (第 2 章) の血圧調節に及ぼす影響、血管周囲交感神経を介した血管収縮反応に及ぼす影響 (第 3 章)、SHR の利

尿作用に及ぼす影響（第4章）について検討している。得られた研究成果は以下の通りである。

第1章：正常 Wistar ラットの血圧について検討し、A484954 単独の急性静脈内投与は正常時血圧に影響しなかったが、ノルアドレナリン（NA）誘導性昇圧作用を抑制し、 β 受容体作動薬（isoproterenol）の降圧作用を増強した。この効果は別の eEF2K 阻害薬である NH125 でも確認された。摘出腸間膜動脈標本を用いた *in vitro* 解析により、A484954 が平滑筋の β_2 受容体活性化と内向き整流性 K^+ チャネル開口、血管内皮細胞の一酸化窒素（NO）産生を介して弛緩反応を誘導することを示唆する成績を得た。

第2章では本態性高血圧モデルの SHR での検討により、腸管脈動脈の eEF2K の活性と発現が 4–5 週齢と比較して 10 週齢において亢進することを Western blot 法で示し、A484954 単独の急性静脈内投与が血圧を低下させることを明らかにした。摘出腸管膜動脈標本での検討で A484954 が内皮由来弛緩因子（NO やプロスタサイクリン）産生を介して血管拡張を誘導することを示唆した。以上の知見を基に、eEF2K 阻害が SHR モデルの高血圧症の治療法となりうると主張している。

続く第3章では血管を制御する外膜上の周囲神経、すなわち NA 作動性の交感神経と NO 作動性神経に着目点を広げ、神経調節性の血管緊張に対する A484954 の影響を検討している。血管周囲交感刺激は摘出腎動脈標本に経壁電気刺激（transmural nerve stimulation: TNS）により行い、まず始めに TNS 誘導性収縮が神経 Na^+ チャネル阻害薬（lidocaine）及び血管作動性 α_1 受容体遮断薬（prazosin）前処置により抑制されたことから、交感神経由来 NA を介することを確認している。そして正常 Wistar ラット摘出腎動脈の TNS 誘導性収縮は A484954 により抑制され、この抑制作用は NO 合成阻害薬（L-NAME）前処置により解除されることを示した。さらに SHR 摘出腎動脈の TNS 誘導性収縮

は正常ラットと比較して大きく、重要なことに A484954 の TNS 誘導性収縮の抑制作用は正常ラットと比べてより顕著であるという知見を得た。以上より、A484954 の作用点は血管周囲の NO 作動性神経にも存在し、NO 遊離を促進することで交感神経性収縮反応を急性に抑制し、この作用が病態モデルの SHR で顕著であることを明らかにした。

最後の第 4 章では、高血圧治療薬の標的臓器として循環器系に加えて重要な腎臓に対する A484954 の影響を検討している。A484954 腹腔内投与は正常血圧の Wistar Kyoto ラットにおいて利尿作用を誘導しなかったが、SHR において誘導した。さらに尿中 Na^+ 排泄と腎血流量を増大することも示された。SHR 摘出腎動脈において A484954 は弛緩反応を誘導し、 β 受容体遮断薬前処置により抑制された。以上より A484954 は SHR において β_2 受容体を介した腎動脈の拡張とそれに続く血流量の増大と Na^+ 再吸収阻害により利尿作用を誘導ずることを実証した。

以上のように本研究の主たる成果は、選択的 eEF2K 阻害薬である A484954 が急性の降圧作用、すなわち血管拡張作用、交感神経活性抑制作用、利尿作用などの降圧に関わる多面的な作用を示すことを初めて示したことである。In vivo での正常及び高血圧ラットの全身血圧の検討を端緒に、腸管膜動脈や腎動脈標本による in vitro 実験により、この薬物の作用点が内皮細胞、平滑筋細胞、血管制御性神経の複数の細胞種にあることを明らかにした。さらに高血圧に付随する腎機能障害に対しても、一定の有効作用があることも示した。個体レベルにとどまらず、組織・細胞・分子レベルにおいて様々な手法を駆使し、A484954 の降圧薬としての有用性を示す多くの実験データを得ている。本薬物の標的物質が「eEF2K」のみなのか、また eEF2K による蛋白質翻訳の抑制がどのように高血圧症の発症に寄与しているのかの 2 点については不明であり、この点の考察も充分とは言えないため、詳細な作用機序について今後さらなる検討が必要

であると思われる。しかしながら本研究で明らかにされた A484954 の多面的作用に関する知見は、新たな高血圧緊急症の治療薬や治療法開発につながると考えられる。本博士論文内の個々のデータは、すべて筆頭著者として 6 報の原著論文 (*J Vet Med Sci* 2019;81(1):35-41、同 2019;81(10):1509-1514、同 2021;83(1):42-47、*J Pharmacol Sci* 2018;137:86-92、同 2020;144:165-171、*Eur J Pharmacol* 2021;913:174637) として発表され、また 1 報が投稿中である。これらの業績から、同氏が研究遂行能力に限らず、論文作成能力、並びに研究プレゼンテーション能力も十分に有していると判断される。

以上の総合的観点から、兒玉氏は基礎獣医学における十分な研究業績と研究遂行能力、並びに学力を有していると判断され、博士（獣医学）を授与するに相当すると審査員一同で判断した。