

## 学位論文要旨

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

Exploring therapeutic agents for cardiovascular diseases targeting  
eukaryotic elongation factor 2 kinase

北里大学大学院獣医学系研究科

獣医学専攻 博士課程

兒玉 朋子

Tomoko Kodama

指導教授 山脇 英之

Eukaryotic elongation factor 2 (eEF2) kinase (eEF2K)は特異的基質でタンパク質翻訳過程における伸長因子である eEF2 をリン酸化することで、タンパク質翻訳を抑制的に制御する。当研究室はこれまで血管系において eEF2K が長期的に作用し、本態性高血圧症や肺高血圧症の病態進展に寄与することを明らかにした。褐色細胞腫や妊娠高血圧症、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する。高血圧緊急症は直ちに降圧治療を開始しなければ心臓、脳、腎臓などの標的臓器障害が急速に進行し致死的になり得る疾患である。高血圧緊急症時には数時間以内の降圧治療が求められていることから、血圧制御機構における急性作用の検討は重要である。そこで本研究は eEF2K 選択的阻害薬である A484954 を用いて、高血圧症の病態制御における eEF2K の急性作用を血管拡張、交感神経活性、利尿作用に着目して検討した。

## 1. 正常血圧の Wistar ラットにおける血圧制御機構に及ぼす A484954 の影響

第一章では A484954 による eEF2K 活性阻害が正常血圧の Wistar ラットにおける血圧制御に及ぼす影響を検討した。A484954 急性静脈内投与は Wistar ラットの血圧に影響を及ぼさなかったが、ノルアドレナリン誘導性昇圧作用を抑制し (*J. Vet. Med. Sci.* 2019 a)、 $\beta$ アドレナリン受容体作動薬による降圧作用を増強した (*J. Vet. Med. Sci.* 2019 b)。降圧作用の機序を検討したところ、Wistar ラット摘出腸間膜動脈において A484954 が主に平滑筋の  $\beta_2$  アドレナリン受容体活性化と内向き整流性  $K^+$ チャネル開口を介

して弛緩反応を誘導することが示された(*J. Pharmacol. Sci.* 2018)。以上から A484954 による eEF2K 活性阻害が、血管拡張を介して急性に降圧作用を誘導することを初めて明らかにした。

## 2. 高血圧症モデルラット *spontaneously hypertensive rats (SHR)* における血圧制御機構に及ぼす A484954 の影響

第二章では高血圧症モデル SHR において A484954 による eEF2K 活性阻害が血圧制御に及ぼす影響を検討した。A484954 急性静脈内投与は単独で降圧作用を誘導した。降圧作用の機序を検討したところ、A484954 は SHR 摘出腸間膜動脈において内皮由来弛緩因子産生を介して血管拡張を誘導することが示された(*J. Pharmacol. Sci.* 2020)。更に 4-5 週齢の SHR と比較して 10 週齢の SHR 摘出腸間膜動脈において、eEF2K 活性及び発現が亢進していた(*J. Vet. Med. Sci.* 2021)。以上から A484954 による eEF2K 活性阻害が、内皮由来弛緩因子産生を介した血管拡張により、急性に降圧作用を誘導することを初めて明らかにした。更に、SHR の加齢(病態進展)に伴い eEF2K 活性が亢進することから、eEF2K 活性阻害が高血圧症の治療標的となり得ることが示唆された。

## 3. 血管周囲交感神経を介した血管収縮反応に及ぼす A484954 の影響

血管緊張性は主に血管外膜上の血管周囲神経により調節される。血管周囲神経にはノルアドレナリンを伝達物質とする交感神経や一酸化窒素(nitric oxide: NO)を放出する NO 作動性神経が存在する。SHR の血圧上昇機序の 1 つとして交感神経活性の増大が

ある。よって第三章では A484954 による eEF2K 活性阻害が血管周囲交感神経を介した血管収縮反応への及ぼす影響を検討した。血管周囲交感神経刺激は摘出腎動脈標本に経壁電気刺激(transmural nerve stimulation: TNS)により行った。最初に TNS 誘導性収縮が神経  $\text{Na}^+$ チャネル阻害薬及び血管平滑筋  $\alpha_1$  アドレナリン受容体遮断薬前処置により抑制されたことから、交感神経由来ノルアドレナリンを介することを確認した。Wistar ラット摘出腎動脈において、TNS 誘導性収縮は A484954 により抑制された。A484954 による TNS 誘導性収縮の抑制作用は、NO 合成酵素阻害薬前処置により解除された。SHR 摘出腎動脈における TNS 誘導性収縮は Wistar ラットと比較して大きかった。更に A484954 による SHR 摘出腎動脈における TNS 誘導性収縮の抑制作用は Wistar ラットと比べて大きかった。以上から A484954 は NO 作動性神経から NO を遊離させ、血管周囲交感神経由来のノルアドレナリンを介した収縮反応を急性に抑制することを初めて明らかにした。またこの作用は SHR の摘出腎動脈で顕著であった (manuscript submitted)。

#### 4. A484954 が高血圧症モデルラットの利尿作用に及ぼす影響

高血圧症治療薬の作用標的として、循環器系に加えて腎臓が重要である。A484954 が腎機能(利尿作用)にも影響を及ぼす可能性が考えられた。第四章では、A484954 による eEF2K 活性阻害がラットの利尿作用に及ぼす影響を検討した。A484954 腹腔内投与は正常血圧の Wistar Kyoto rat において利尿作用を誘導しなかった。一方、SHR において A484954 投与は、利尿作用を誘導した。更に A484954 は尿中  $\text{Na}^+$ 排泄と腎血流量を増大させた。SHR 摘出腎動

脈において A484954 は弛緩反応を誘導し、 $\beta$ アドレナリン受容体遮断薬前処置により抑制された。以上から A484954 による eEF2K 活性阻害は、SHR において $\beta_2$ アドレナリン受容体を介した腎動脈の拡張とそれに続く腎血流量の増大と  $\text{Na}^+$ 再吸収阻害により利尿作用を誘導することを初めて明らかにした (*Eur. J. Pharmacol.* 2021)。

本研究は、A484954 による eEF2K 活性阻害が急性の血圧制御作用を示すことを初めて明らかにした。具体的には、A484954 が血管拡張を介して、正常血圧の Wistar ラットにおいては昇圧アゴニスト誘導性の血圧上昇を、高血圧ラットの SHR においては単独で降圧作用を誘導することを明らかにした。加えて SHR 摘出腎動脈において、A484954 が交感神経活性化を介した血管収縮反応を抑制することを明らかにした。更に A484954 が SHR において利尿作用を誘導することを明らかにした。このように本研究において、選択的 eEF2K 阻害薬 A484954 が血管拡張作用、交感神経活性抑制作用、利尿作用といった降圧に関わる多面的な作用を有することを初めて明らかにした。今後更なる検討が必要ではあるが、本研究で明らかにした A484954 の多面的な作用に関する新たな知見は、新たな高血圧緊急症の治療薬や治療法開発に貢献するものと考えられる。