

氏名 (本籍)	小 牧 久 晃 (岐阜県)
学位の種類	博 士 (医学)
学位授与番号	甲第 1081 号
学位授与日付	平成 30 年 7 月 18 日
学位授与要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Azilsartan attenuates cardiac damages caused by high salt intake through downregulation of cardiac (pro)renin receptor and its downstream signals in spontaneously hypertensive rats
審査委員	(主査) 教授 小澤 修 (副査) 教授 飯田 宏樹 教授 大沢 匡毅

論文内容の要旨

古典的な renin-angiotensin(RA)系の刺激により心筋障害が進展することから、現在、RA 系抑制薬の angiotensin converting enzyme 阻害剤と angiotensin II receptor blocker が臨床現場で頻用されている。一方、従来は不活性と考えられていた prorenin が (pro)renin receptor と結合し angiotensin II の産生を促進し、RA 系を活性化することが報告されている。しかし、prorenin-(pro)renin receptor 系が心臓障害と関連しているかについての報告は少ない。筆者らは以前、自然発症高血圧ラット (spontaneously hypertensive rat 以下 SHR) に高食塩負荷を行うことにより、血中の renin 活性が低下するにもかかわらず心臓組織の prorenin-(pro)renin receptor 系が活性化し、心筋間質の線維化、血管周囲の線維化および心筋細胞肥大が起こることを報告している。そこで今回、prorenin-(pro)renin receptor 系の活性化の抑制は心臓障害を軽減するという仮説を立てた。本研究の目的は、高血圧と高食塩で引き起こされた、prorenin-(pro)renin receptor 系刺激とそれに伴う心臓障害を、angiotensin II receptor blocker である azilsartan が軽減できるか否かを検討し、その分子メカニズムを解明することである。

【対象と方法】

SHR に対し、通常食 (0.9% NaCl) 群、高塩食 (8.9% NaCl) 群、通常食に azilsartan (1 mg/day) を加えた群および高塩食に azilsartan (1 mg/day) を加えた群の 4 群に分け飼育した。また、コントロールとして Wistar Kyoto rats に普通食を与えた群を飼育した。これらの 5 群において、6 週齢から血圧測定および心臓エコー検査を行った。12 週齢に採血を行い、血漿可溶性 (pro)renin receptor 濃度を測定した。さらに、心臓を摘出し病理学的検討およびウエスタンブロッティング法によるタンパク質の解析を行った。

さらに、SHR に対し、通常食 (0.9% NaCl) 群および通常食に angiotensin II (100 ng/kg/min) を浸透圧ポンプにより皮下投与した群の 2 群に分け飼育し、6 週齢から血圧測定および心臓エコー検査を行った。12 週齢時に心臓を摘出し、病理学的検討およびウエスタンブロッティング法によるタンパク質の解析を行った。

【結果】

高塩食群は通常食群に比べて収縮期血圧が有意に高かった。高塩食に azilsartan を加えた群では、高塩食群に比べて収縮期血圧が有意に低かった。高塩食に azilsartan を加えた群では、高塩食群に比べて心臓エコー検査上の左室内径短絡率の改善、心室中隔壁厚の減少および拡張期左室内径の減

少が認められた。病理学的には心筋間質線維化と血管周囲線維化の改善および心筋細胞サイズの縮小が認められた。高塩食群では通常食群と比べて、血漿可溶性(pro)renin receptor 濃度が有意に増加していたが、その増加は azilsartan 投与で減少していた。高塩食群では普通食群と比べて、心臓組織における(pro)renin receptor の発現が増加し、その下流シグナルである ERK1/2 および p38 MAPK についても、リン酸化 ERK1/2, リン酸化 p38 MAPK および p38 MAPK の下流に存在する HSP27 のリン酸化のレベルが上昇していた。また、TGF-β1 が強発現していた。一方、高塩食に azilsartan を加えた群では高塩食群に比べて、(pro)renin receptor および TGF-β1 の発現が減弱していた。また、ERK1/2, p38 MAPK および HSP27 のリン酸化のレベルが低下していた。

通常食に angiotensin II を投与した群では、通常食群と比べ収縮期血圧が有意に高かった。心臓エコー検査上では、左室内径短絡率の増悪、心室中隔壁厚の増大および左室内径の拡大が認められた。病理学的には、心筋間質線維化と血管周囲線維化の増加および心筋細胞サイズの増大が認められた。また通常食群と比べて、(pro)renin receptor および TGF-β1 の発現が減弱していた。また、ERK1/2, p38 MAPK および HSP27 のリン酸化のレベルが低下していた。

【考察】

本研究では、SHR において高塩食が左室内径短絡率の増悪、心室中隔壁厚の増大および拡張期左室内径を拡大させることが示された。心臓組織において、心筋間質線維化と血管周囲線維化、心筋細胞サイズの増大が認められた。さらに prorenin, (pro)renin receptor および TGF-β1 の発現が上昇していた。また、リン酸化 ERK1/2, リン酸化 p38 MAPK およびリン酸化 HSP27 のレベルが上昇していた。この変化は、angiotensin II を投与した場合にも同様に認められた。一方、高塩食に azilsartan を加えると、これらの変化の改善が認められた。以上の結果から、angiotensin II が心臓組織における(pro)renin receptor の発現の制御に関わっていることが示唆され、さらに angiotensin receptor blocker の azilsartan は、prorenin-(pro)renin receptor 系の活性化を軽減させることで心筋保護作用を示すと考えられた。

【結論】

Angiotensin II receptor blocker である azilsartan は、自然発症高血圧ラットにおいて、prorenin-(pro)renin receptor 系を抑制することにより、高塩食による心臓障害を改善することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者 小牧久晃は、自然発症高血圧ラットを用いて、angiotensin II receptor blocker である azilsartan が、prorenin-(pro)renin receptor 系の活性化を軽減させることで、高塩食による心臓障害を改善することを明らかにした。この知見は、循環器病学の発展に少なからず寄与するものであることを認める。

[主論文公表誌]

Hisaaki Komaki, Masamitsu Iwasa, Yuka Hayakawa M, Chihiro Okamoto, Shingo Minatoguchi, Yoshihisa Yamada, Hiromitsu Kanamori, Masanori Kawasaki, Kazuhiko Nishigaki, Shinya Minatoguchi: Azilsartan attenuates cardiac damages caused by high salt intake through downregulation of cardiac (pro)renin receptor and its downstream signals in spontaneously hypertensive rats.

Hypertension Research (in press)