

学位論文要約

Extended Summary in Lieu of the Full Text of a Doctoral Thesis

氏名: 吉田明弘  
Full Name

学位論文題目: (Pro)renin Receptor Blockade Ameliorates Heart Failure Caused by  
Thesis Title Chronic Kidney Disease

学位論文要約:  
Summary of Thesis

レニン-アンジオテンシン系 (RAS) はヒトの心血管系の恒常性を司る主要な内分泌機構であり, 慢性腎臓病 (CKD) においてその病態の成立にこの RAS 系が大きく関与している。CKD は RAS の活性化により心筋肥大・線維化を引き起こすことで心不全の原因となる。RAS には血液循環を介して全身の臓器に作用する循環型 RAS と臓器組織での産生されるアンジオテンシン (AT) II により作用する組織型 RAS が存在する。我々の研究室では以前 CKD マウスモデルにおいて心臓組織 RAS が亢進していること, AT II 受容体タイプ I を阻害することで心筋肥大と心筋線維化を抑制することを報告した。近年レニンとその前駆物質である(プロ)レニンの共受容体(プロ)レニン受容体[(P)RR]が新しい RAS ファミリーとしてクローニングされ心血管系を含む様々な臓器に発現することが報告されている。本受容体は細胞膜上に分布しレニン・(プロ)レニンと結合し非酵素的に AT II を産生することで組織 RAS の活性化を行うとともに受容体の下流に独自の細胞内シグナル経路を持ち線維化や細胞増殖を制御する。また(P)RR は細胞内のリソソーム膜上の V-ATP ase の構造の一部でもあることから自己細胞内蛋白分解系であるオートファジーにも大きく関与することが想定される。(P)RR の阻害を考えたとき, 前者を阻害することは病態の改善に有益であろうが後者を阻害することは有害になり得る。そこで本研究では(P)RR を特異的に阻害する handle region peptide (HRP) を用い (P) RR 遮断による CKD モデルマウスの心血管系への影響を検討した。

【対象と方法】

CKD モデルとしてマウス (C57BL/6J, 8 週齢) に左側の 2/3 腎摘を施行し, その一週間後に右側の全腎摘を施行し合計で 5/6 腎摘を施行した。8 週後に血圧測定・心エコー検査を行い一様に高血圧・心不全を呈していることを確認した。同様に Sham 手術を施行したマウスをコントロールとした。CKD マウス, sham 手術マウスそれぞれに浸透圧ミニポンプにより生理食塩水 (生食) もしくは HRP を 8 週後より 4 週間投与した。血圧測定, 心エコー・左室圧カテーテル検査による心機能評価を施行した後, 血液検査・心筋の組織学的検査・免疫染色・ELISA・ウェスタンブロッティング法 (WB 法) による生化学的検査により心筋線維化・心筋肥大・オートファジーに関連する蛋白やシグナルの評価を行った。また HRP は用量依存的な効果を評価するため, 低用量 HRP 群 (0.01mg/kg/日), 高容量 HRP 群 (0.3mg/kg/日) を作成した。

【結果】

CKD 群では sham 群に比べ BUN・CRE が 2 倍程度の上昇を認めた。また腎摘から 8 週後の薬剤介入前の CKD 群では収縮期血圧の上昇・左室拡張末期径の増加・左室収縮能の低下が認められた。生食 CKD 群ではその後, 4 週間の経過でさらなる左室リモデリングが進行し左室腔の拡大を認めた。一方, 高容量 HRP 群では収縮期血圧の低下, 左室拡張末期径の減少 (リバースリモデリング), 収縮能・拡張能の改善を認めた。また低用量 HRP 群では上記の改善は認めなかった。上記の結果より組織学的評価・生化学的評価は低用量 HRP 群を除外し生食群・高容量 HRP 群で比較検討した。組織学的には CKD 群では心重量・心体重比の増加, 心筋細胞の肥大, 心筋間質の線維化を認めた。また 8-OHdG, F4/80 免疫染色により心筋細胞の酸化ストレスの増加と心筋の炎症が示唆された。WB 法により CKD 心筋では TGF- $\beta$ 1, collagen I, TIMP-1, MMP-2, MMP-9, 4HNE の発現

が増加していた。これらは高容量 HRP 群では抑制されていた。

血漿中のレニン活性や AT II 濃度などいわゆる循環型 RAS はいずれの群でも有意差は認めなかった。また心筋での (P)RR の発現は CKD 群で増加していたが高用量 HRP はその発現レベルに影響しなかった。心筋組織型 RAS については CKD 群では AT II・AT1R の発現が亢進していたが、高容量 HRP 群では抑制されていた。(P)RR に関わるシグナルとして CKD 群では ERK・HSP27・p38 のリン酸化が増加していたが、高用量 HRP 群では抑制されていた。オートファジーに関しては CKD 心筋細胞ではオートファジー空胞の数が増加していたこと、WB 法で LC3II/I の増加、cathepsin D や V-ATP-ase の発現増加を認めたことからオートファジーの活性化が示唆された。高濃度 HRP ではこれらに変化を認めなかった。

#### 【考察】

CKD マウスでは血圧の上昇・心機能の低下・心肥大・心筋の線維化が見られ、酸化ストレスの増強・心筋の炎症が関与したと考えられた。この病態の形成には循環型 RAS よりも組織型 RAS の亢進が影響したと考えられた。CKD 心筋では (P)RR の発現が増加していたが HRP 投与により病態が改善した。HRP 投与により心筋組織 RAS が抑制され、(P)RR の下流シグナルも抑制されていたことから CKD 心筋の病態には (P)RR が大きく関係していることが示された。また (P)RR は細胞内のリソソーム膜上にも存在するため心筋のオートファジーへの阻害が危惧されたが影響は認めなかった。以上より (P)RR を阻害することは CKD 誘発心不全の新たな治療戦略の一つとなる可能性が示唆された。また心臓を構成する細胞は多岐にわたるが当研究では HRP の具体的な標的細胞は解明されておらず、(P)RR の下流シグナルの解明も一部に留まっているため更なる詳細な検討が必要である。

#### 【結論】

CKD 誘発心不全には (P)RR の活性化が関与している。HRP による (P)RR の阻害は、血圧の上昇・心筋の肥大・線維化を抑制し CKD 誘発心不全の有効な治療の選択肢となり得る可能性が示唆された。