

氏名（本籍）	吉田明弘（愛知県）
学位の種類	博士（医学）
学位授与番号	甲第1109号
学位授与日付	令和元年5月15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	(Pro)renin Receptor Blockade Ameliorates Heart Failure Caused by Chronic Kidney Disease
審査委員	（主査）教授 矢部 大介 （副査）教授 森 教授 古家 琢也 田 浩之

### 論文内容の要旨

レニン-アンギオテンシン系（RAS）は心血管系の恒常性を司る重要な内分泌機構であり、慢性腎臓病（CKD）の病態成立に深く関与すると共に、CKDに伴うRAS活性化は心筋肥大・線維化を引き起こし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と臓器組織で局所的に産生されたアンギオテンシン（AT）IIが作用する組織型RASが存在する。我々の研究室は、CKDモデルマウスにおいて心臓組織RASが亢進していること、AT II受容体タイプI（AT1R）を阻害することで心筋肥大と心筋線維化が抑制されることを報告している。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〕が同定され注目される。（P）RRは、心筋を含む様々な臓器に発現し、細胞膜上でプロレニンと結合することでAT II産生を促進し、組織型RASを活性化する。さらに、（P）RRの下流シグナルの活性化は組織の線維化や肥大を促すため、（P）RR阻害は、CKDに伴う心不全の病態改善に資する可能性がある。一方、（P）RRはリソソームのV-ATPaseの構成蛋白の一つとして細胞内自己蛋白質分解系であるオートファジーへの関与も想定されるため、（P）RR阻害が病態を悪化させる可能性もある。そこで本研究では、CKDモデルマウスにおいて、（P）RRを特異的に阻害可能なhandle region peptide（HRP）による（P）RR阻害が心血管系に与える影響を検討した。

#### 【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週間より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）、高用量HRP群（0.3mg/kg/日）を作成した。

#### 【結果】

CKD群ではsham群に比べ血液尿素窒素（BUN）・血清クレアチニン（CRE）値の上昇がみられた（約2倍）。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、高用量 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 群と比較検討した。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-hydroxy-2'-deoxyguanosine (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。これらは高用量 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を認めなかった。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 で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、高用量 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 LC3 II/I の増加、cathepsin D や V-ATPase 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。高用量 HRP 群ではこれらに変化を認めなかった。

#### 【考察】

CKD モデル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障害が危惧されたが影響は認めなかった。以上より (P)RR を障害することは 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 の障害は、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。

#### 論文審査の結果の要旨

申請者 吉田明弘は、腎部分摘除術による CKD モデルマウスにおいて、CKD に関連した心不全の病態とレニン-アンギオテンシン系のメディエーターである(プロ)レニン受容体[(P)RR]の役割に注目し、(P)RR の特異的阻害ペプチド投与が心筋の線維化や肥大を抑制し、心不全の病態を改善することを明らかにした。本研究成果は、新たな治療標的を明らかにし、新規創薬のリード化合物を同定しえた点で、CKD に関連した心不全の予防・治療に少なからず貢献するものと認める。

---

#### [主論文公表誌]

Akihiro Yoshida, Hiromitsu Kanamori, Genki Naruse, Shingo Minatoguchi, Masamitsu Iwasa, Yoshihisa Yamada, Atsushi Mikami, Masanori Kawasaki, Kazuhiko Nishigaki, Shinya Minatoguchi: (Pro)renin Receptor Blockade Ameliorates Heart Failure Caused by Chronic Kidney Disease  
*Journal of Cardiac Failure* 2019 (in press)

Doi:10.1016/j.cardfail.2019.02.009