



Intracellular renin protects cardiomyocytes from ischemic injury in diabetic heart

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2016-05-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 野中, 大史 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/3001

博士(医学) 野中 大史

論文題目

Intracellular renin protects cardiomyocytes from ischemic injury in diabetic heart

(細胞内レニンが糖尿病心の虚血傷害から心筋細胞を保護する)

論文の内容の要旨

[はじめに]

局所レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系 (RAS) は循環 RAS とは独立した調節機構を有している。心筋細胞は細胞内レニン (非分泌型レニン) のみを産生し、その細胞内レニンの多くがミトコンドリアに局在することが報告されている。心筋細胞では虚血再灌流時に細胞内レニンが増加することが報告され、糖尿病 (DM) の心筋細胞では、細胞内レニンが増加する。近年の大規模臨床試験において、心不全加療中の DM 患者への直接的レニン阻害薬 direct renin inhibitor (DRI) の追加投与により予後が悪化することが報告され、レニンが糖尿病心の病態生理において未知の役割を有することを示唆する。今回我々は、糖尿病心における虚血時のレニンの発現と細胞内局在、およびミトコンドリア機能に対するレニンの効果について研究した。

[材料ならびに方法]

本研究は、浜松医科大学動物実験委員会の承認を得て実施した。Goto-Kakizaki ラット (DM) と Wistar ラット (non-DM) の摘出心を用いたランゲンドルフ装置にて灌流し、左前下行枝を結紮して 90 分間の虚血モデルを作成した。虚血前に DRI またはアンジオテンシン II 受容体拮抗薬 angiotensin receptor blocker (ARB) を灌流し、灌流心の左室発生圧 (LVDP) と左室拡張末期圧 (LVEDP) を心機能の指標とした。虚血後に心筋組織標本を作製し、1% triphenyl tetrazolium chloride 染色と 1% Evans blue 染色にて梗塞範囲を測定して壊死領域を評価した。アポトーシスは、ウェスタンブロット法による Bax、Bcl-2、caspase 3 の測定と、Hoechst 33342 染色による核凝縮の観察により評価した。RAS の発現は、免疫組織染色法とウェスタンブロット法にて解析し、電気勾配を消失させることにより電子伝達系と ATP 合成を脱共役する蛋白質である uncoupling protein (UCP) 2 の発現はウェスタンブロット法にて解析した。レニンの細胞内局在は、コロイド金免疫電子顕微鏡法と、密度勾配遠心分離法で回収したミトコンドリア分画と細胞質分画を用いたウェスタンブロット法にて検討した。また、ミトコンドリア機能の評価として、細胞膜透過性単離心筋細胞と単離ミトコンドリアにレニンを灌流し、蛍光色素 (TMRE; 10 nmol/L、JC-1; 0.5 μ mol/L) を用いてミトコンドリア膜電位を測定し、エネルギー代謝の測定には、NAD/NADH 比は蛍光法を、ATP はルシフェラーゼ法により測定した。

[結果]

虚血後の LVDP の低下と LVEDP の上昇は、DM 群において non-DM 群より軽度であり、梗塞範囲も DM 群で有意に縮小した。Bax、Bcl-2、caspase 3 の発現や核凝縮は

両群間で差を認めなかった。DM 群では虚血域におけるレニンの発現が増加し、細胞質よりもミトコンドリアに多く存在した。アンジオテンシン II の増加は明らかであったが、non-DM 群では虚血域でのレニンとアンジオテンシン II の発現の増加を認めなかった。DRI は DM 群の心機能を悪化させ、梗塞範囲を増大させた。さらに DRI は DM 群の虚血域におけるレニンの発現を有意に抑制したが、ARB は DM 群の心機能に影響を与えなかった。以上より、細胞内、特にミトコンドリアに多く発現するレニンの増加により、糖尿病心筋の虚血傷害が軽減することが示唆された。単離心筋細胞と単離ミトコンドリアへ各々レニンを曝露するとミトコンドリア膜電位は過分極し、この効果は DRI の同時投与で抑制された。単離ミトコンドリアへのレニンの曝露によって NAD/NADH 比が上昇し、ATP 産生も増加し、ATP の産生増加は DRI の同時投与により抑制された。non-DM 群の虚血域で増加した UCP 2 は、DM 群の虚血域では増加が確認されなかった。さらに DRI は DM 群の虚血域における UCP 2 を増加させた。

[考察]

我々は、糖尿病心の虚血時に細胞内レニンの発現が増加し、そのレニンが虚血傷害から心筋細胞を保護することを示した。本研究では、ランゲンドルフ灌流心を用いることにより循環血漿中からのレニンの取り込みは除外されるので、糖尿病心の虚血域で増加したレニンは心筋細胞内で発現したものと考えられた。また、DM 患者への DRI の投与が予後を悪化させたという大規模臨床試験の結果に関連して、本研究において ARB ではなく DRI が糖尿病心の虚血傷害を悪化させたことから、糖尿病心の虚血耐性関わるレニンの効果は、アンジオテンシン II には非依存性であると考えられた。

[結論]

本研究において我々は、虚血時に増加する細胞内レニンが糖尿病心筋の虚血耐性に寄与することを明らかにした。この細胞保護効果は、少なくとも一部は電子伝達系の亢進と UCP 2 の抑制によりミトコンドリア膜電位の脱分極が抑制され、ATP 産生が保持されることによると考えられた。