

審査の結果の要旨

氏名 鈕 培

Adrenomedullin (AM) は、心臓、腎臓、肺など広く循環器系の臓器に発現し、血管においては血管平滑筋及び内皮細胞にて産生され、強力な血管拡張作用にもとづく降圧作用を持つペプチドと考えられている。高血圧、心不全、心筋梗塞、慢性腎不全のような病態では、血中の AM が重症度に比例して高値を示すことが報告されている。心肥大は種々の循環器疾患に伴って生じ、心疾患の原因や増悪因子となっている。本研究は AM ノックアウト (AMKO) マウスを用いて、内因性の AM が心肥大および心線維化に及ぼす影響の解明を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. AM ノックアウト (AMKO) マウスはホモ接合体が胎生期致死であり、胎生 13.5 日の死亡率が 80%を超えていた。ヘテロ接合体では平均血圧 10 mmHg 程度の血圧上昇を認め、野生型 (WT) と比較して心臓、腎臓などの発現量の多い臓器で AM のレベルは半分まで低下していることを確認した。
2. 圧負荷モデル及び、AngII を持続投与したモデルにおいては、WT マウス、AMKO マウスとも心体重比の増加と左室壁肥厚が認められたが、WT マウスに比較して AMKO マウスでより顕著であった。心エコーで圧負荷後、共に左心室中隔、後壁の肥厚が認められたが、AMKO マウスで有意に厚くなっていた。病理所見の検討でも、負荷後の心筋細胞のサイズの増大は AMKO マウスでより顕著であった。圧負荷後の心臓においては、心肥大関連遺伝子としてアンジオテンシノーゲン、アンジオテンシン変換酵素遺伝子の発現亢進、また線維化関連遺伝子として Transforming growth factor (TGF) β 、I 型コラーゲン遺伝子の発現亢進を AMKO マウスの方でより強く認めた。術後 2 時間の急性期の心臓では、初期反応遺伝子である c-fos の発現亢進も AMKO マウスでより著明であった。逆にカルシウムハンドリングに関わる SERCA2 の発現は AMKO マウスで低下していた。
3. AMKO マウスでは、上述した両者のモデルにおいて心臓の間質の線維化及び冠動脈周囲の線維化の増強が認められた。冠動脈周囲線維化部分の面積/血管内腔の面積比 (PVF/VA) の検討では、AMKO マウスで有意な上昇が確認された。増殖細胞のマーカーである Proliferation cell nuclear antigen (PCNA) 陽性細胞の数は、AMKO マウスでより増加していた。
4. AMKO マウスは WT マウスに比較して、血圧上昇を認めるが、ヒドララジン投与

を行って血圧を低下させた AMKO マウスにおいても、WT に比べて臓器障害が強く認められた。このため、AMKO マウスにおける臓器障害は、血圧上昇による二次的なものではなく、AM の発現量低下そのものによると強く示唆された。

5. 心筋細胞を初代培養し、AngII 刺激を行ったところ、タンパク合成能、Atrial natriuretic peptide (ANP) の発現亢進が認められたが、その変化は AMKO マウスで顕著であった。更に心線維芽細胞の培養系での検討でも、心線維芽細胞の増殖能、I 型コラーゲンの発現などは AMKO マウスでより亢進していたことがわかった。
6. AMKO マウスでは WT マウスに比較して、圧負荷後急性期の心臓及び AngII 刺激した心筋細胞共に、ERK の活性化亢進が認められた。PKC の阻害剤である H7 を投与したところ、ERK の活性化は AMKO マウスも WT マウスも同じ程度まで抑制された。ラット培養心筋細胞において、AngII 刺激により上昇した ERK 活性化は、AM を添加することにより抑制された。AM の ERK 活性化抑制作用は PKA 阻害剤である H89 を添加する事により減弱した。AM の心肥大抑制作用は、PKC pathway の抑制に加えて、PKA パスウェイの亢進を介した ERK 活性化抑制によると考えられた。

以上、本論文により内因性の AM が心肥大、心繊維化に対して保護的に働いていることが判明した。また、PKA 及び PKC パスウェイを介した ERK 活性化抑制が、AM の心肥大抑制作用の一つであることも明らかとなった。従って、内因性の AM は血管拡張作用に加えて、臓器保護作用を有する生理活性物質であることが認められた。これらの知見は AM が高血圧に伴う臓器障害に対する保護作用を有し、今後、心疾患に対する治療薬として臨床応用される上で重要な貢献をなすと考えられ学位の授与に値するものと考えられる。