論文の内容の要旨

論文題目　　Oxidative stress, left ventricular diastolic dysfunction and mineralocorticoid receptor activation

和　　訳　　酸化ストレス、左室拡張機能障害とミネラロコルチコイド受容体活性化

指導教員　藤田敏郎　教授
東京大学大学院医学系研究科
平成１６年４月入学
　　医学博士課程
　　内科学専攻
　　氏名　王紅

左室拡張機能障害は高血圧から心不全を来たすプロセスの重要な要素であり，その発症には高血圧以外にも様々なホルモン環境，例えばアンジオテンシン II，酸化ストレスが関与している。さらに大規模臨床試験によりアルドステロン受容体拮抗薬は心不全患者の死亡率と罹病率を減少することが認められたことからアルドステロンの重要性も注目されている。又これら液性因子がお互いに関連し，例えばアンジオテンシン II は酸化ストレスを介して心肥大と心筋の繊維化をもたらすが，その作用の一部はアルドステロンを介するものであることが報告されている。

本研究ではアンジオテンシン一アルドステロン系と酸化ストレスが左室拡張機能障害，早い段階の心機能障害発症においてどのように関連するかを明らかにするために，我々は Sprague-Dawley ラットを用いて低食塩食，高食塩食で内因性アルドステロン濃度を変化させ，さらにアンジオテンシン II を投与下で，ラットの血圧，血中ステロイドレベル，酸化ストレス産生，左室拡張機能を調べた。

結果：血中アルドステロン濃度は高食塩投与により抑制された。アンジオテンシン II/高食塩食群は高食塩コントロール群より動脈血圧が上昇し（アンジオテンシン II/高食塩食群平均動脈圧 119.67±8.29 mmHg；高食塩食群 100.80±10.45 mmHg，$p<0.05$），酸化ストレスも各群と比べ高くなった(24 時間尿中 isoprostane： アンジオテンシン II/高食塩食群

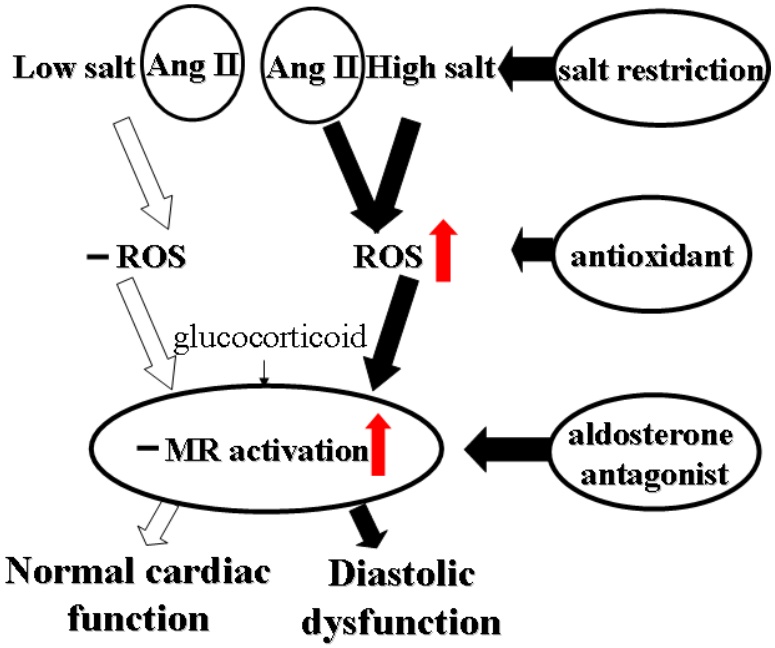
552.40±198.65 ng；高食塩食群 363.91±140.17 ng, $p<0.05$；アンジオテンシン II/低食塩食群 251.61±83.11 ng, $p<0.01$)。特にルシジェニン化学蛍光発光法より，左心室組織における NADPH 添加時の活性酸素の産生（NADPH oxidase 活性）はアンジオテンシン II/高食塩食ラットにおいて（14968.76±2670.86 RLU/g）有意に増大していた（ 高食塩食群 7708.9±4532.35 RLU/g, $p<0.05$；アンジオテンシン II/低食塩食群 4339.53±2920.52 RLU/g, $p<0.01$)。心機能は心エコーと左心カテーテルを用いた観血的方法で評価した。アンジオテンシン II/高食塩食群の左室拡張機能障害は高食塩食群と比べ著明（ドップラーエコー/僧帽弁流入波形で得られる E/A ratio： アンジオテンシン II/高食塩食群 1.42±0.17, 高食塩食群 1.78±0.36, $p=0.05$； 早期流入波減速時間（DcT）： アンジオテンシン II/高食塩食群 69.29±6.17 ms, 高食塩食群 59.33±7.27 ms, $p<0.05$； 左室圧波の-dP/dt： アンジオテンシン II/高食塩食群 6.37±1.44 mmHg/s, 高食塩食群 8.78±1.54 mmHg/s, $p<0.05$； 等容性拡張期の時定数(T)アンジオテンシン II/高食塩食群 17.96±3.14 ms,高食塩食群 13.72±2.34 ms, $p<0.05$）であった。一方，アンジオテンシン II/低食塩食群は血中アルドステロン濃度が上昇したが，酸化ストレスが高くなく，心機能(アンジオテンシン II/高食塩食群と比べ)も障害しなかった(E/A ratio: 1.87±0.38, $p<0.05$; DcT: 58.68±1.31 ms, $p<0.01$; -dP/dt: 9.21±1.41 mmHg/s, $p<0.05$; T: 12.91±1.91 ms, $p<0.01$)。ミネラロコルチコイド受容体（MR）の発現を調べると各群間差がなかったが，アンジオテンシン II/高食塩食群の NHE-1 の発現は著明に上がった。NHE-1 はアルドステロン或いは MR のシグナル伝達の下流にある遺伝子の一つであるが，NHE-1 の発現や拡張機能障害は酸化ストレスの上昇と関連すること，酸化ストレスはアルドステロン受容体の情報伝達を増強する可能性が報告されていることから，次に MR 拮抗薬と抗酸化剤を使う検討をした。MR 拮抗薬(eplerenone)と抗酸化剤(tempol)はともに血圧に影響なく，アンジオテンシン II/高食塩食群と比べ心機能を改善し(E/A ratio: eplerenone 群 1.82±0.31, $p<0.01$, tempol 群 1.73±0.25, $p<0.05$; DcT: eplerenone 群 58.68±1.31 ms, $p<0.05$, tempol 群 51.29±4.57 ms,

$p<0.01$; -dP/dt: eplerenone 群 8.60±1.53 mmHg/s, $p<0.05$, tempol 群 9.68±1.64 mmHg/s, $p<0.01$; T: eplerenone 群 12.64±2.19 ms, $p<0.01$, tempol 群 10.5±2.19 ms, $p<0.01$), NHE-1 の発現を抑えた。

続いて酸化ストレスにより MR は活性化させることを証明するために *in vitro* で検討した。先ず心筋細胞は高糖培養状況下で酸化ストレスを産生しそれは浸透圧非依存性であることを証明した。高糖培養のみでは NHE-１の発現の変化が認められなかったが，生理濃度のステロイド（コルチコステロン）と共投与すると NHE-１の発現は著明に上昇した。この発現はグルココルチコイド受容体拮抗薬では変化なし，MR 拮抗薬で抑制された。ステロイド添加培養下で GFP-MR プラスミドをトランスフェクションした心筋細胞の MR は細胞質と核両方に存在したが，酸化ストレスが増加すると MR はほぼ核に移動した。

以上のことからアンジオテンシン II―酸化ストレス―グルココルチコイドの MR 活性化による左室拡張機能障害を来たすことが考えられた（図）。生活習慣を見直し，減塩を指導することに加え，抗酸化薬と MR 拮抗薬による心不全発症の有効な予防が期待される。

AngII: アンジオテンシン II
ROS: 活性酸素種
Aldo: アルドステロン


Low salt
Ang II
Ang II
High salt
salt restriction
− ROS
ROS
antioxidant
glucocorticoid
− MR activation
aldosterone antagonist
Normal cardiac function
Diastolic dysfunction