

論文の内容の要旨

論文題目 アンジオテンシン II 投与動物モデルにおける脂肪毒性による
臓器障害についての検討

指導教員 永井 良三 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

本郷 真紀子

序文

肥満の個体では脂肪組織への中性脂肪の貯蔵が飽和状態となり、膵臓、心臓、肝臓、骨格筋など非脂肪組織への脂質集積が認められる。非脂肪組織への過剰な脂質集積は、組織の機能障害を惹起する可能性があり、脂肪毒性（リポトキシシティ）と呼ばれている。

肥満・過栄養状態での非脂肪組織への脂質集積は、過剰に存在する脂肪酸の代謝の障害や、グルコース過剰状態からの脂質産生によって起こる。循環血漿中の遊離脂肪酸は、細胞に取り込まれ中性脂肪として貯蔵されるが、貯蔵の限界を超えると加水分解され酸化経路に入る。しかし脂肪酸酸化の許容量以上では、セラミド形成などの組織障害性の経路を

経て、膵臓β細胞や心筋細胞ではアポトーシスを誘導するような結果をもたらす（リポアポトーシス）。

2型糖尿病では、耐糖能障害に先立ち、循環血漿中の遊離脂肪酸の増加がみられることが指摘されている。糖尿病や肥満における高血糖、インスリン抵抗性、膵臓β細胞の減少は、遊離脂肪酸の増加、非脂肪組織への脂質集積によるリポトキシシティとしてとらえることが可能である。

肝臓や骨格筋に比較すると、膵β細胞や心筋における余剰脂質の代償能力には限界があり、糖尿病や肥満にみられる膵β細胞の消失や心血管リスクにつながると考えられている。糖尿病や肥満症例では心臓への脂質集積が認められ、糖尿病患者の心臓では収縮能および拡張能の障害が多く報告されており、脂肪毒性による障害と考えられている。

糖尿病動物モデルの心臓では、アンジオテンシノーゲンやレニンが増加しており、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬により心筋拡張能障害および心筋線維化が改善されることが報告され、糖尿病の心筋障害に対するレニン・アンジオテンシン系(RAS)の関与が考えられている。

アンジオテンシンⅡを持続投与したラットの腎臓には脂質が集積し、活性酸素種のひとつであるスーパーオキシドの過剰産生部位に脂質集積の局在が一致していること、また糖尿病ラットにみられる腎臓への脂質集積がAT1受容体拮抗薬により抑制されることを共同研究者が以前報告し、脂質集積にはRASの関与があると考えている。本研究では、アン

ジオテンシン II を投与したラットの心臓にも腎臓同様に脂質が集積するか、また脂質集積が認められる場合には、肥満や糖尿病例と同様に脂肪毒性による臓器障害が生じるかどうかを検討した。

糖尿病ラットへの PPAR γ アゴニストの投与により、脂質代謝関連蛋白の発現が亢進し、左室拡張能障害が改善したとの報告があり、アンジオテンシン II の持続投与によって臓器への脂質が集積する場合、その脂質集積に対する PPAR γ アゴニストのピオグリタゾン併用の効果と臓器機能に及ぼす影響についても検討した。

方法

ラットの皮下に浸透圧ポンプを埋め込み、アンジオテンシン II およびノルエピネフリンの持続投与モデルを作成した。アンジオテンシン II 投与モデルにロサルタン、ヒドララジンあるいはピオグリタゾンを経口投与する群を作成した。これらの各群の心・腎組織中脂質含量、脂質代謝遺伝子の発現、臓器機能を検討した。

結果

アンジオテンシン II の持続投与による心組織中の脂質集積は、ロサルタン投与により完全に抑制されたが、ヒドララジンによる抑制は不完全であった。アンジオテンシン II 投与にて脂質代謝関連遺伝子 PPAR α 、PPAR γ 、SREBP-1c、FAS、HMG-CoAR、PGC-1 α 、UCP2、

UCP3 の発現調節がみられ、これらはロサルタン投与により抑制された。また蛋白レベルでは、アンジオテンシン II 投与により SREBP-1、AMPK の活性が亢進しており、ロサルタン投与にて抑制された。以前の報告によると acyl CoA synthase、PPAR α 、PPAR γ の過剰発現マウスの心筋では脂肪酸酸化関連蛋白の発現亢進と、拡張型心筋症の発症を認めること、これらの現象が脂質集積の減少により改善されることから、過剰な脂質集積が心機能障害の原因となっていると考えられている。本研究で認められた脂質代謝関連遺伝子の発現パターンは脂質が集積することに矛盾しない。培養脂肪細胞ではアンジオテンシン II により、SREBP-1c や FAS の発現が亢進し、脂質産生が増加することが報告されている。Finck らの報告では、心臓における PPAR α の過剰発現は脂肪毒性に関連して拡張型心筋症を引き起こしており、今回の実験により PPAR α mRNA の発現亢進が認められることから、アンジオテンシン II 投与と心臓への脂質集積には PPAR α の関連が疑われる。

脂肪酸酸化経路は、AMPK の活性化により ACC のリン酸化が起こり、マロニル CoA の減少、CPT-1 の活性化、アップレギュレーションをもたらすことにより活性化される。本研究ではアンジオテンシン II 投与により心臓の AMPK が活性化されていたが、CPT-1 mRNA 発現は抑制されていた。Tian らは AMPK の活性化が長時間に及んだ場合、脂肪酸酸化関連蛋白のダウンレギュレーションが起こる可能性を指摘しており、これをふまえると、アンジオテンシン II による AMPK の活性化と CPT-1 発現低下は、ロサルタンのみならず、ヒドララジンによっても抑制され、また CPT-1 mRNA の発現の亢進がノルエピネフリン

による高血圧によっても生じることから、これらの現象が高血圧によって惹起されたものである可能性を示唆している。

UCP はスーパーオキシド産生に関与しているとされており、また、酸化ストレスの増大やスーパーオキシドの増加が SREBP-1 や FAS の発現を亢進するとも報告されている。脂質集積部位とスーパーオキシド産生部位が一致していることからアンジオテンシン II による脂質集積と酸化ストレスは関連があるものと考えられる。

アンジオテンシン II 投与による心組織中への脂質の集積、心線維化はピオグリタゾンの投与により抑制された。7 日間投与群ではランゲンドルフ体外灌流により検討した心機能にピオグリタゾン投与群、非投与群の間に有意差を認めなかった。一方、14 日間投与群ではピオグリタゾン投与は心臓の収縮・拡張能を改善した。

アンジオテンシン II 刺激が、ラット培養細胞において脂肪酸酸化経路の抑制、PPAR α や、 γ の発現の抑制し、心筋細胞の肥大やコラーゲン合成の抑制に働き、これらの現象は PPAR アゴニスト投与により抑制されることが報告されているが、その作用が PPAR γ 依存性のものであるかは明らかではない。脂質の集積と心筋肥大がみられるモデルでは、脂質代謝関連遺伝子の過剰発現していることが報告されており、全身の肥満とは独立して、心臓における脂質集積が拡張型心筋症を引き起こす可能性がある。PPAR γ は心臓での発現が非常に少なく PPAR γ アゴニストは心臓においては PPAR γ を介さずに脂質代謝に作用する可能性がある。今回の実験ではアンジオテンシン II 投与による AMPK の活性化、ACC リン酸化

の抑制は、ピオグリタゾン投与により減少しているが、これは心筋内の脂質が減少したことを反映している可能性もある。ピオグリタゾンの投与による脂質集積および線維化の抑制は、心臓の収縮・拡張能の改善に寄与すると考えられる。

アンジオテンシン II 投与により腎組織への脂質集積が生じるが、PPAR γ アゴニストのピオグリタゾンの投与はオイルレッド O 染色領域および腎組織中脂質含量を低下させた。7 日間投与群では尿蛋白排泄量を増加したが、ピオグリタゾンは有意な影響を与えなかった。しかし、14 日間投与群において認められる尿蛋白増加に対しては、ピオグリタゾン投与は抑制的に働いた。Shin らは、高血圧ラットに対して高脂肪食を投与すると腎臓に脂質が集積し、この腎臓では PPAR α の発現の低下、RAS の活性化、酸化ストレスの増加を認め、腎機能は低下し、これらが PPAR α アゴニストのフェノフィブラート投与により抑制されると報告している。また Yang らの報告では、ラットの加齢性の糸球体濾過率の低下や腎硬化に対して、ピオグリタゾンが進行を抑制する効果があり、腎における PPAR γ の発現が亢進していた。今回の実験では PPAR γ アゴニストにより、アンジオテンシン II 投与による腎臓への脂質集積の抑制と腎機能低下の抑制がみられることから、腎臓においてもリポトキシシティが生じていると考えている。また腎においては PPAR γ アゴニストの作用は PPAR γ に依存している可能性がある。

まとめ

アンジオテンシン II 投与によりロサルタンによって抑制される心臓への脂質集積と、脂質代謝関連遺伝子の発現の調節がみられた。また脂質集積部位とスーパーオキシド産生部位は一致しており、同部位に組織障害が生じていると考えられた。糖尿病の動物モデルや心臓への脂質集積や脂質代謝関連遺伝子の発現調節がみられ、アンジオテンシン II による脂質集積メカニズムと糖尿病によるメカニズムには関連がある可能性がある。ピオグリタゾンではアンジオテンシン II による脂質集積を抑制し、14 日間投与群では心収縮・拡張能を改善した。心臓での PPAR γ アゴニストの作用は PPAR γ を介するものではない可能性がある。腎臓にもアンジオテンシン II により脂質が集積し、尿中蛋白排泄量が増加しており、ピオグリタゾンはこれらを抑制した。

心臓、腎臓への脂質集積には、アンジオテンシン II が関与しており、心臓において PPAR γ アゴニストは脂質代謝関連遺伝子の発現調節を介してこれを抑制し、脂質集積による臓器障害、リポトキシシティを軽減する可能性を示した。