

論文の内容の要旨

論文題目 **Rac1 contributes to overactivation of mineralocorticoid receptor
in pressure overload-induced cardiac injury**
(Rac1 は圧負荷性心障害における MR 過剰活性化に寄与する)

氏名 鮎澤 信宏

ミネラルコルチコイド受容体 (MR) はレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系の最終産物であるアルドステロンの受容体であり、腎遠位尿細管において発現しナトリウム排泄の調節を介して水・電解質の恒常性維持に働く因子として従来知られてきた。しかし近年では、MR は脳・心血管・腎糸球体・免疫細胞などの組織・細胞にも発現し、様々な生理的反応や病態形成機序に関与していることが明らかとなっている。心臓においても MR が心不全などの病態形成に深く関与することが多くの基礎・臨床研究によって示されてきた。しかし、その際に循環リガンド量は必ずしも増加しておらず、MR の活性化機序については未だ不明な点が多い。

我々は以前、食塩感受性高血圧による腎障害において低分子量 G 蛋白 Rac1 がリガンド結合とは異なる機序で MR の活性化を引き起こし、腎糸球体障害の形成に関与することを報告した。さらに最近我々は、培養心筋細胞において恒常活性型変異 Rac1 遺伝子の導入により MR の核内集積や MR 依存性転写活性の亢進が起こることを見出し、心臓においても Rac1 が MR 活性化に寄与する可能性を見出した。そこで本研究では生体の心臓においても Rac1 が MR の活性化に寄与し心障害の形成に関与することを、マウスにおける圧負荷性心不全のモデルを用い検討することとした。

まず、C57BL/6J マウスに大動脈縮窄術を行い心臓に慢性圧負荷を加えたところ、7 週後に高度の心肥大・心不全が起きた。すなわち心重量の増加、左室壁厚の増大、心筋断面積の増加、左室駆出率の低下が見られ、また病的な心肥大の指標遺伝子である ANP (atrial natriuretic peptide) 遺伝子や β -MHC (myosin heavy chain) 遺伝子の発現増加、心筋機能に関与する SERCA2 (sarcoplasmic reticulum calcium ATPase 2) 遺伝子の発現低下が

示された。この際、圧負荷により左室における活性型 Rac1 の増加が起こるとともに、MR 蛋白の核内集積亢進や、心筋における MR 標的遺伝子である PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) 遺伝子や Serpin3n (serine or cysteine peptidase inhibitor, clade A, member 3N) 遺伝子の発現増加が起こっていた。

次に、同実験系において Rac1 阻害薬 NSC23766 (NSC) および MR 拮抗薬 eplerenone (EPL) の投与が及ぼす効果について検討した。圧負荷による左室 Rac1 活性化は NSC により抑制され、また MR の核内集積亢進および MR 標的遺伝子の発現増加は NSC および EPL の両者により抑制された。そして、圧負荷により引き起こされる心肥大および心不全も NSC および EPL の両者により改善した。なお、アルドステロンの血中濃度は NSC 投与により変化しなかった。以上の結果から圧負荷により活性化された Rac1 が循環アルドステロン量の変化とは異なる機序により MR の活性化を引き起こし心肥大・心不全に寄与することが示された。

さらに、MR 活性化を介した心障害の形成機序には NADPH oxidase (Nox) 活性化を介した酸化ストレスの亢進が関与する可能性が示唆されているため、上記実験においてこれらにつき解析を行った。圧負荷を受けた左室では Nox4 遺伝子の発現量が著しく増加しており、それに伴い Nox 活性の増加や、酸化ストレス産物である 4-HNE (4-Hydroxynonenal) の増加も見られた。これらの変化は NSC および EPL 投与の両者により抑制された。以上から、圧負荷による Rac1・MR 活性化から心肥大・心不全に至る経路には Nox4 活性化による酸化ストレスの亢進が関与している可能性が示唆された。

最後に、Cre・LoxP システムを用いて心筋特異的 Rac1-KO マウスを作成し検討を行った。ホモ接合型 KO マウスは胎生致死であったが、ヘテロ接合型 KO マウスは通常飼育条件では明らかな異常を示さず、野生型マウスとの比較において心筋細胞特異的に Rac1 発現が半減していることが確認された。このヘテロ KO マウスおよび野生型マウスに大動脈縮窄術を行ったところ、野生型では 7 週間後に高度の心肥大・心不全を示し、左室 Rac1 の活性化、MR の核内集積亢進、MR 標的遺伝子の発現増加、Nox4 遺伝子の発現量増加が見られたが、これらの変化はいずれもヘテロ KO マウスでは抑制された。なお血中アルドステロン濃度は野生型とヘテロ KO マウスで同等であった。これらの結果から、圧負荷性心不全では心筋細胞における Rac1 の活性化が MR 活性化を介した障害形成に重要であることが示された。

以上、本研究では圧負荷性心不全において心筋細胞の Rac1 の活性化が循環リガンドの変化とは異なる機序で MR 活性化を引き起こし、Nox4 活性化・酸化ストレスの亢進を介して

障害形成に関与することを示した。ただし、圧負荷性心不全における **Rac1** 活性化がどのようにして起こるのか、また活性化した **Rac1** がどのようにして **MR** の核内集積や **MR** 標的遺伝子の発現調節に関与するのかなど、詳細なメカニズムは不明である。今後さらに検討を重ね心不全形成における障害経路の解明に役立てたい。