

学位授与番号：甲 985 号

氏 名：藤崎 雅実

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 27 年 2 月 25 日

学位論文名：

仔ラット初代培養心筋細胞における高糖濃度環境でのアルドステロン合成の誘導

主論文名：

Rapid Induction of Aldosterone Synthesis in Cultured Neonatal Rat Cardiomyocytes under High Glucose Conditions.

(仔ラット初代培養心筋細胞における高糖濃度環境でのアルドステロン合成の誘導)

学位審査委員長：教授 横尾隆

学位審査委員：教授 南沢享 教授 宇都宮一典

論 文 要 旨

論文提出者名	藤崎 雅実	指導教授名	吉村 道博
--------	-------	-------	-------

主論文題名

Rapid Induction of Aldosterone Synthesis in Cultured Neonatal Rat Cardiomyocytes under High Glucose Conditions.

(仔ラット初代培養心筋細胞における高糖濃度環境でのアルドステロン合成の誘導)

BioMed Research International, Volume 2013 Article ID 161396, 6 pages.

(電子出版 2013年10月28日)

アルドステロンは古典的な副腎皮質での生合成経路に加えて、副腎外の組織でも産生されているという報告が最近なされている。我々は心臓におけるアルドステロン産生を以前報告しているものの、未だ議論の余地があり研究グループ間でも報告は一致していない。この理由は再現性の高い方法でアルドステロン合成酵素の発現を評価する実験モデルが確立されていなかったことに一因がある。今回、我々は仔ラット初代培養心筋細胞を用いてアルドステロン産生について様々な角度から検討を行った。方法として、糖濃度環境を正常から高糖濃度、時相を2から24時間の間へと条件を変えて心筋細胞に刺激を与えた。その後、細胞のアルドステロン合成酵素の mRNA 発現をリアルタイム PCR 法で比較検討し、培養液中へ分泌されたアルドステロンの濃度を EIA 法で測定した。結果、高糖濃度環境下で4時間の細胞培養を行うと通常糖濃度環境下での培養と比較して、アルドステロン合成酵素の mRNA 発現とアルドステロン分泌の有意な上昇がみられた。よって、この条件がアルドステロン合成・分泌を誘導するのに最適な条件であることが判明した。アンジオテンシン II 1型受容体拮抗薬は、この高糖濃度で誘導されるアルドステロン合成酵素の mRNA 発現の上昇に対して有意な抑制効果を示し、高糖濃度環境はアンジオテンシン II 受容体を介して心筋細胞局所でアルドステロン産生を誘導することが示唆された。

結論として、仔ラット初代培養心筋細胞系におけるアルドステロン合成酵素の発現誘導の評価を行うための最適な条件は、高糖濃度環境下の比較的短い時間の培養であることを今回我々は初めて報告した。そして、この実験系の確立が心臓組織のアルドステロン合成の研究の今後の進展に大きく寄与するものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

藤崎雅実氏の学位申請論文は、Rapid Induction of Aldosterone Synthesis in Cultured Neonatal Rat Cardiomyocytes under High Glucose Conditions. (仔ラット初代培養心筋細胞における高糖濃度環境でのアルドステロン合成の誘導)と題する、2013年 BioMed Research International(IF 2.706)に掲載された、内科学講座循環器内科 吉村道博教授指導による研究である。以下に論文内容の要旨と審査委員会の結果を報告する。

アルドステロンは高血圧を始めとする動脈硬化疾患や心不全、腎不全への関与が大きいことが知られており、複数のメタ解析で心不全患者に選択的にアルドステロン阻害をすることにより総死亡や心血管死を減少し、予後改善効果があると報告されている。しかしこの現象は血中アルドステロン濃度が生理的範囲内にあっても認められるため、局所で産生されるアルドステロンの臓器障害作用を抑制した可能性が指摘されていた。また心臓からアルドステロンが産生されるか否かについては報告が様々であり、これまで結論がついていなかった。その一番の理由は局所で産生されるアルドステロンが非常に微量である為測定感度の問題があり、その解決の大きな障壁となっていた。これに対し藤崎氏は、今まで同教室で蓄積された知見を元に、再現性のある方法を確立した。これを用いてアルドステロン合成酵素である CYP11B2 の mRNA が仔ラット初代培養心筋細胞中に存在することを証明し、高糖濃度環境下で比較的早い時相に CYP11B2mRNA 発現が上昇してアルドステロン分泌の増加がみられることを証明した。

本論文に対し、平成 27 年 2 月 9 日、宇都宮一典教授、南沢享教授ご臨席のもと公開学位論文審査会を開催した。席上、1) アルドステロン発現の調節因子として、CYP11B2 の転写調節と貯留蛋白の流出が考えられるが、実験結果から双方がどのように関与していると考えられるのか、2) CYP11B2 の転写促進は AT1 受容体を介すると想定されているが、その間をつなぐシグナルについては調べているのか、3) アルドステロンを分泌しているのは心臓内線維芽細胞ということは無いのか、4) 高血糖刺激による AII の mRNA の増加や、AII 刺激下でのアルドステロンの誘導はみえていないのか、5) 心筋におけるグルコーストランスポーターの発現様式はどのようになっているか、いずれが関与しているのか、6) 成獣ラットでも同様の発現が認められると判断して良いのか、など多数の質問があり、藤崎氏はどの質問に対しても適切な回答を行った。

この実験手法は今後の心臓組織におけるアルドステロン合成研究の進展に多いに寄与するものと考えられ、急性冠症候群および心不全を含む心血管疾患における局所アルドステロンの生理的、病態生理学的意義の解明につながる価値のある報告と考えられる。従って慎重審議の結果、学位請求論文として十分な価値があるものと判断した。