

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 31 年 5 月 5 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16012

研究課題名(和文)脳内レニンアイソフォームの発現調整異常は慢性心不全の発症機序に寄与しているか

研究課題名(英文)Contribution of brain renin isoforms to the pathogenesis of heart failure

研究代表者

篠原 啓介 (Shinohara, Keisuke)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：30784491

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：心不全の発症や進行に交感神経活動の亢進が大きく関与しており、交感神経活動の調節には脳内のレニン・アンジオテンシン系が重要な役割を持つ。特に、レニン・アンジオテンシン系を調節する酵素であるレニンには細胞内レニンと分泌型レニンの2種類があり、本来脳内には細胞内レニンが多く存在していることが近年明らかになった。本研究では、心不全モデルラットにおいて脳内レニンの調節異常(細胞内レニンの低下と分泌型レニンの増加)が関与しているかを検討し、交感神経活動を規定する重要な脳の部位において、細胞内レニンは低下せず分泌型レニンが増加していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心不全は患者数が増加の一途をたどる中、5年生存率50%という未だ予後不良の疾患である。これまでの多くの心不全治療や心不全研究は心臓をはじめとする末梢臓器をターゲットとしてきたが、心不全の病態に重要な交感神経活性化に最も寄与する臓器は脳といえる。本研究で心不全における脳内レニンの発現調節異常を明らかにすることは、心不全に伴う交感神経活性化の機序解明につながり、心不全の新規治療法開発に応用できると考える。

研究成果の概要(英文)：Sympathoexcitation is crucially involved in the pathogenesis of heart failure (HF). Brain renin-angiotensin system (RAS) plays an important role in the regulation of sympathetic activity. Renin is the rate-limiting component of the RAS and there are two renin isoforms: classical secreted renin and novel intracellular renin which remains intracellularly. Intracellular renin has been shown to be predominantly expressed in the brain. We previously generated a unique mouse model by selectively ablating the intracellular renin and indicated that increased secreted renin and decreased intracellular renin in the brain may contribute to sympathetic activation. The aim of this study was to examine whether the secreted renin is increased while the intracellular renin is decreased in post-myocardial infarction-induced HF rat model. We demonstrated that the secreted renin is increased without significant changes in intracellular renin in the brain nuclei regulating sympathetic activity in HF rats.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心不全 脳 レニン・アンジオテンシン系

1. 研究開始当初の背景

心不全の主たる病態として交感神経活性化が重要視されている。近年、難治性高血圧に対する腎交感神経アブレーション治療をはじめ、交感神経抑制をターゲットとした治療やその機序解明について国内外で関心が高まっている。脳は末梢からの神経体液因子の入力を受け、それを統合・調節し交感神経活動を規定している。特に脳内レニン・アンジオテンシン系（Renin-angiotensin system: RAS）の活性亢進は交感神経活動を亢進させ、心不全の発症進展に大きく寄与している。

RAS の律速酵素であるレニンには、細胞外に分泌される分泌型レニンと細胞内に留まる新規レニンアイソフォーム・細胞内レニンの 2 種のアイソフォームがあり、脳内においては細胞内レニンが優位に発現していることが近年明らかになった（図 1）。そこで、我々は脳内細胞内レニンによる脳内 RAS 調節の働きに着目した。そして、細胞内レニンノックアウトマウスを用いて、脳内レニン発現調節異常（分泌型レニン増加・細胞内レニン減少）が脳内 RAS を介して交感神経活動を亢進させる可能性を示した（引用文献①）。しかし、この脳内レニン発現調節異常による脳内 RAS 活性化を介した交感神経活動亢進機序が、心不全の病態・進展に関与しているかは不明である。

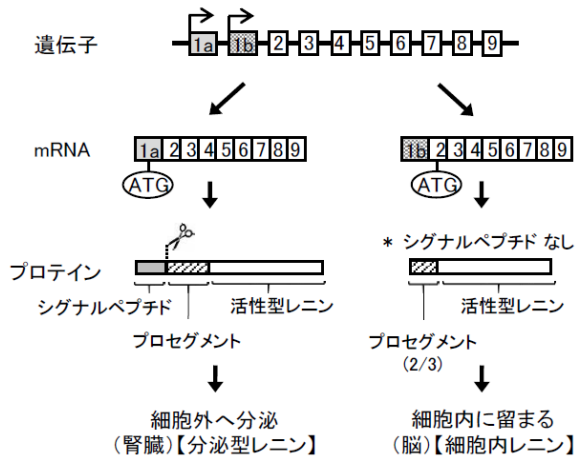


図1: 2つのレニンアイソフォーム
脳内においては細胞内レニンが優位に発現している

2. 研究の目的

本研究では、心不全モデル動物を用いて、
 (1) 脳内レニンアイソフォームの発現調節異常が心不全病態に関与しているか、
 (2) さらには脳のどの部位のレニン発現調節を標的にすれば心不全が改善するか、
 を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) レニンアイソフォームの発現解析のための PCR プライマー作成

レニン遺伝子は 9 つのエクソンから成り、分泌型レニンと細胞内レニンはそれぞれエクソン 1a、エクソン 1b から転写が始まる（図 1）。エクソン 1b 以降の遺伝子配列は両レニンアイソフォームともに同じであり、mRNA 塩基配列の違いはエクソン 1a とエクソン 1b の違いのみから成る。これらを検出するために新規 PCR プライマーを作成する。

(2) 心不全モデルの作成

心不全モデル動物として冠動脈結紮による心筋梗塞後心不全ラットを作成する。心筋梗塞 1 か月後のラットが心不全慢性期モデルとして従来の多くの研究で用いられている。心エコー、カテーテルによる圧（体血圧・左室拡張末期圧）測定検査を用いた心機能評価に加えて、体重・心肺重量の測定により心不全の評価を行う。

(3) 心不全モデルにおける脳内レニンアイソフォームの発現解析

心不全モデルラットから脳を摘出し、脳全体および循環調節に関わる脳神経核におけるレニンアイソフォームの発現解析を定量 PCR 法で行う。循環調節を担う脳神経核として、具体的には視床下部室傍核および頭側延髄腹外側野の脳組織を用いる。特定の脳神経核の採取は、凍結した脳をクライオスタット下にマイクロパンチすることで行う。

4. 研究成果

(1) 分泌型レニンおよび細胞内レニンの発現解析のための PCR プライマー作成

ラットにおける分泌型レニンおよび細胞内レニンの mRNA 発現の解析のため、新規 PCR プライマーを作成した。各レニンアイソフォームの mRNA 塩基配列の違いはエクソン 1a とエクソン 1b の違いのみから成り、特にエクソン 1b は 46 塩基と短く、適切なプライマー作成は容易ではなかった。分泌型レニンのポジティブコントロールとして腎臓を、細胞内レニンのポジティブコントロールとして脳を用いてアッセイを繰り返し、最終的に適切な PCR プライマーを得た。

(2) 冠動脈結紮による心筋梗塞後心不全ラットの作成

8 週齢の SD ラットに心筋梗塞を作成し、術後 4 週後のラットを心不全モデル動物として用いた。sham 手術を行ったラットを対照とした。sham ラットに比し心不全ラットにおいて、心拡大ならびに左室収縮能の低下、左室拡張末期圧の上昇を認めた。

(3) 心不全ラットの脳における分泌型レニンおよび細胞内レニンの発現解析

全脳を用いたレニンアイソフォームの mRNA 発現解析では、心不全ラットと対照の sham 手術ラットの両群間で、分泌型レニンならびに細胞内レニンいずれも発現量に有意差を認めなかった。

次に、交感神経活動を規定する重要な脳神経核である視床下部室傍核および頭側延髄腹外側野におけるレニンアイソフォームの発現解析を行った。心不全ラットにおいて、分泌型レニン mRNA は頭側延髄腹外側野で sham 手術ラットに比し有意に増加し、視床下部室傍核では増加傾向 ($P < 0.088$) を認めた (図 2)。細胞内レニン mRNA は、視床下部室傍核、頭側延髄腹外側野ともに両群間で有意差を認めなかった。

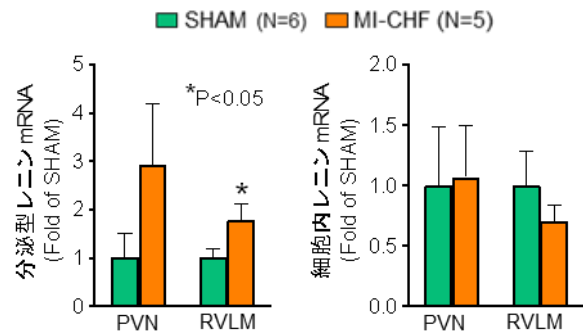


図2: 心筋梗塞後心不全ラット(MI-CHF)および sham ラット(SHAM)の視床下部室傍核(PVN)、頭側延髄腹外側野(RVLM)におけるレニンアイソフォームの発現

[考察と今後の課題]

これらの結果より、交感神経活動を規定する脳神経核での分泌型レニン増加が心不全の病態に関与している可能性が示唆された。しかし、本研究開始時の仮説である心不全における細胞内レニン低下を伴う分泌型レニン増加は確認できなかった。今後は、神経細胞株を用いた *in vitro* 実験でレニンアイソフォームの発現調節について検討が必要と思われる。

<引用文献>

- ① **Shinohara K**, Liu X, Morgan DA, Davis DR, Sequeira-Lopez ML, Cassell MD, Grobe JL, Rahmouni K, Sigmund CD. Selective deletion of the brain-specific isoform of renin causes neurogenic hypertension. *Hypertension*. 68(6):1385-92, 2016.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

- ① **篠原 啓介**

脳内細胞内レニンは脳内レニン・アンジオテンシン系を負に制御し血圧上昇を抑制する
第 41 回 日本高血圧学会総会
2018 年 9 月 15 日
北海道旭川市

② 篠原 啓介

血圧・代謝調節における脳内細胞内レニンの役割

第15回 Cardiovascular Translational Research Conference

2019年2月2日

福岡県福岡市

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

○取得状況 (計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

研究代表者氏名: 篠原 啓介

ローマ字氏名: Shinohara, Keisuke

所属研究機関名: 九州大学

部局名: 大学病院

職名: 医員

研究者番号 (8桁): 30784491

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 研究協力者

該当なし

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。