

令和 4 年 5 月 28 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17274

研究課題名(和文)心腎連関におけるミトコンドリア代謝

研究課題名(英文)Role of mitochondria in cardiorenal syndrome

研究代表者

松浦 亮 (MATSUURA, Ryo)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30847041

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)：心不全により腎臓では線維化が促進されていることを確認し、腎のミトコンドリアの形態が変化していることを確認した。Renal sympathetic denervation(RSDN)による交感神経の抑制では線維化の程度は変化がなかった。一方で、急性腎障害後における心不全の影響については、急性期においては変化はなかったが、回復期には腎線維化の軽減がみられた。こちらも交感神経の関与を考え、RSDNにより腎臓の線維化が増加していることがわかった。このことから心不全下において急性腎障害からの回復期は交感神経が関与していることを示唆する結果となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心不全による腎臓への交感神経活性を介した影響を慢性期、急性期に分けて評価し、従来から言われていた仮説を検証した。今回の研究では急性期、慢性期については影響は明らかではなかったが、急性期からの回復期には交感神経が良い影響を与えている可能性がある。今後は交感神経を介して腎臓に具体的にどのような変化を与えているかを分子レベルでさらに検証し、治療のターゲットを探索することで、現在増加している心腎連関の治療の創薬につながる。

研究成果の概要(英文)：Our experiments confirmed that heart failure induced renal fibrosis and that mitochondria morphology changed in renal proximal tubules of heart failure model. However, suppression of sympathetic activation by renal sympathetic denervation (RSDN) did not have an effect on renal fibrosis. On the other hand, heart failure reduced renal fibrosis two weeks after the induction of acute kidney injury while there is no change in acute phase. RSDN increased renal fibrosis after acute kidney injury, which indicates that sympathetic activation is involved in a favorable effect on acute kidney injury with heart failure.

研究分野：腎臓

キーワード：心腎連関

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

過去の臨床研究では心不全患者において、慢性腎臓病(CKD)の合併率は 50%程度と多いことが知られている(Eur Heart J. 2014;35(7):455-69, Circulation. 2006;113(5):671-8.)。CKD を合併すると死亡率や心血管イベントの発症率が高くなる。心不全の治療として日常診療で使用されている利尿剤や 遮断薬、アンジオテンシン変換酵素阻害薬などは、CKD を合併している場合は薬剤効果の減弱や副作用の出現などの頻度が高くなるため、CKD を合併していない症例と比較して心不全の治療を十分に行えず、予後をさらに悪化させる可能性が高い。心不全の悪化と CKD の進行が悪循環に陥ると、最終的に血液透析などの腎代替療法も必要になる。そのため心不全に合併した CKD に対して早期に介入し治療することができれば、CKD の進行を抑制するだけでなく、心不全の予後を改善する可能性がある。また急性腎障害発症時には心不全の存在は腎機能の回復を不完全にすることも知られている(Kidney Int. reports 4, 571-581 (2019))。

以上のように心不全に合併する腎疾患は心腎連関として知られており、病態は交感神経やレニン・アンジオテンシン系の亢進が原因の一つとして推測されているが、明確なメカニズムは分かっていない(Nat Rev Nephrol. 2016;12(10):610-23.)。そのためこれらの病態を明らかにし、治療法を開発することは、喫緊の課題である。

2. 研究の目的

心不全が慢性腎臓病、急性腎障害にどのように影響を与えるかを検討し、治療の可能性について検索することを目的とした。

3. 研究の方法

心不全モデルとして横大動脈縮窄(TAC)を採用する。

(1)心不全の慢性腎臓病への影響を検証する実験

心不全モデルを作成して 8 週間後に腎臓の評価を行う。対照群は TAC を施行していないマウスとする。TAC 後の心機能や交感神経活性化の評価は心エコーや ELISA による血漿中ないしは腎組織中のノルアドレナリン濃度測定で評価する。腎臓の評価については血漿クレアチニン、尿素窒素(BUN)の測定、組織学的評価による線維化の程度の判定を行う。ミトコンドリアの量や質が低下していることを確認するために、電子顕微鏡でのミトコンドリアの形態の確認を行った。

(2)心不全の急性腎障害への影響を検証する実験

心不全モデルを作成して 8 週後に腎臓に対して虚血再灌流を行う。虚血再灌流後に急性期、慢性期で腎臓の評価を行った。交感神経が心不全による腎への影響に寄与していることを示すため、Renal sympathetic denervation (腎動脈周囲の交感神経を外科的に剥離する)を加えて結果を確認する。

4. 研究成果

(1) 心不全の慢性腎臓病への影響

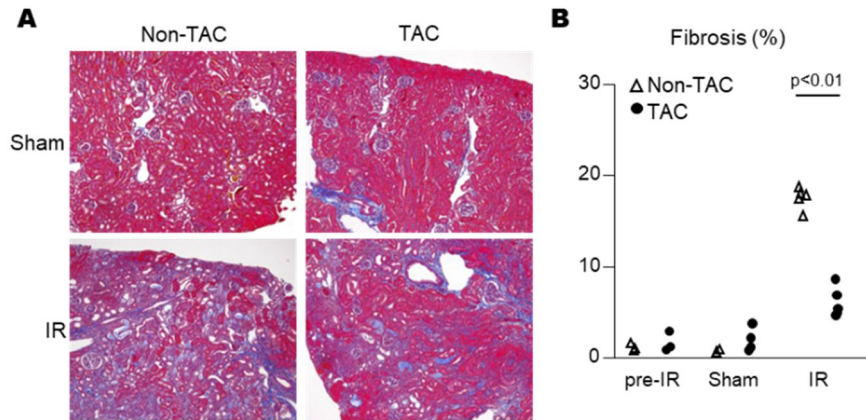
術後 8 週間には TAC マウスが Sham マウスと比較して、心機能が低下していることを確認した。血圧は両者に違いがないことも確認した。TAC から 8 週後にサクリファイスを施行したところ、腎臓の形態や重さは TAC マウスと Sham では変化は見られなかった。光学顕微鏡で観察したところ、TAC マウスにおける腎臓では線維化が血管周囲で促進されていることを確認し、先述の血圧の結果からは循環動態の変動に伴わない変化であることを推測した。そこで、腎組織を電子顕微鏡で観察したところ、腎尿細管のミトコンドリアの形態が TAC マウスで変化していることを確認した。ミトコンドリアの形態が変化する原因となる分子として、過去の文献から DRP1 であることを予想していたが、mRNA、蛋白レベルでも DRP1 に変化がないことを確認し、他のミトコンドリアの形態に関与する分子(OMA1)が、今回の結果につながることを確認した。この分子が TAC マウスで変化をきたした原因として交感神経の活性化が原因と考え、マウス近位尿細管細胞(mProx)を使って実験を行った。具体的には mProx にノルアドレナリンを投与したところ、48 時間後に OMA1 となっている分子が変化していることを確認した。DRP1 や YME1L などのその他の分子で変化がないことも確認した。以上のことから TAC マウスにおいてはミトコンドリアの形態の変化が線維化の関与していることが考えられた。

そこで TAC を施して 8 週経過したマウスに対して、腎動脈周囲の交感神経を外科的に切除(Renal sympathetic denervation, RSDN)したところ、線維化の程度はあまり変化が見られなかった。これは線維化の程度がかなり軽度なもの、もしくは RSDN からの観察期間が短かったからと考えた。今後の検討の課題である。

(2) 心不全の急性腎障害への影響

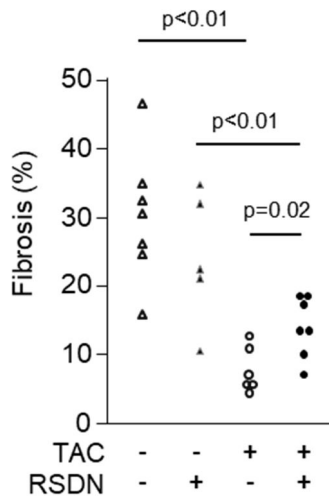
TAC もしくは Sham マウスに対して腎臓に虚血再灌流を施し、どのように変化するのかを確認した。急性期においては尿素窒素、クレアチニンのデータに変化は見られず、心不全の有無で急性腎障害の程度が悪化することはないと考えられた。腎虚血再灌流を施してから 2 週後に腎組織を評価したところ TAC マウスにおいて腎の線維化の軽減がみられた(図 1)。

図 1: TAC による腎虚血再灌流後の線維化軽減



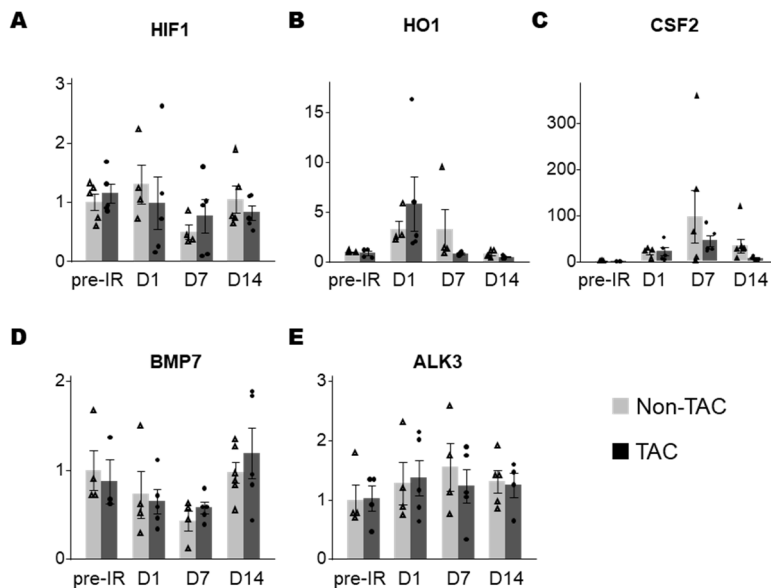
こちらに関しても交感神経の関与を考え、TAC+腎 IR モデルと TAC+腎 IR + RSDN モデルを比較した。RSDN を加えたモデルのほうが、腎臓の線維化が増加していることがわかった。(図 2)

図 2: TAC による腎障害の軽減は交感神経切除による無効になる。



このことから TAC モデルにおける腎障害は交感神経が抑制的に働いていることを示唆する結果となった。過去の文献を参考にして腎障害軽減に関する分子(hypoxia inducible factor 1, heme oxygenase 1, Bone morphogenetic protein 7 など)がこの現象に関与しているかを検証したが、RNA レベルでは差がなく、今回の現象にどの分子が関与しているかは不明であった(図 3)。

図 3



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ryo Matsuura, Tetsushi Yamashita, Naoki Hayase, Yoshifumi Hamasaki, Eisei Noiri, Genri Numata, Eiki Takimoto, Masaomi Nangaku, Kent Doi	4. 巻 11
2. 論文標題 Preexisting heart failure with reduced ejection fraction attenuates renal fibrosis after ischemia reperfusion via sympathetic activation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15091
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-94617-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------