

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461211

研究課題名(和文)急性腎障害における心腎連関とミトコンドリア障害

研究課題名(英文)Kidney-Heart crosstalk and mitochondria injury in acute kidney injury

研究代表者

土井 研人(Doi, Kent)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80505892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：心腎連関症候群は、急性および慢性心不全が腎障害を惹起する、あるいは急性腎障害と慢性腎臓病により心疾患が発症・増悪する、という臨床的な観察に基づいて定義されているが、心臓と腎臓という二つの臓器をつなぐ病態メカニズムについては十分明らかにされていない。特に、急性腎障害が原因で心機能低下を呈するとされるType 3心腎連関症候群については基礎的な検討がほとんどなされていなかった。本研究では、腎虚血再灌流モデルを用い、急性腎障害が心臓組織におけるミトコンドリア断片化とアポトーシスを惹起すること、ミトコンドリア制御蛋白の一つであるDrp-1がこの現象において重要な役割を示していることを見出した。

研究成果の概要(英文)：Acute kidney injury (AKI) is a common complication in critically ill patients treated in intensive care units (ICUs). Cardiorenal syndrome has been defined based on clinical observations that acute and chronic heart failure causes kidney injury and AKI and that chronic kidney disease worsens heart diseases. Possible pathways that connect these two organs have been suggested; however, the precise mechanisms are still unclarified, particularly in AKI-induced cardiac dysfunction. Our animal experiment demonstrated the dysregulation of mitochondrial dynamics caused by an increased Drp1 expression and cellular apoptosis of the heart in a renal ischemia reperfusion model. Although the precise mechanisms that induce cardiac mitochondrial injury in AKI remain unclear, cardiac mitochondria injury will be a novel candidate of drug targets against high mortality in severe AKI.

研究分野：腎臓病学

キーワード：急性腎障害 心腎連関 ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

臓器間のクロストークが急性期の病態においては多臓器不全の進展に大いに寄与していることは以前より指摘されていたが、特に急性腎障害(acute kidney injury; AKI)を合併した場合には、心臓とのクロストークが心腎連関(cardiorenal syndrome)として注目されていた。

心腎連関については慢性腎臓病(CKD)が心血管イベント発症の強力なリスク因子であると認識されて以来、慢性期の病態における心腎連関の役割が検討されることが多い。Ronco らが提唱した cardiorenal syndrome では Type3(急性腎 心障害)に相当する病態は、臨床的には体液過剰、高カリウム血症、尿毒症による心収縮抑制と心膜炎、代謝性アシドーシスなどが惹起因子として挙げられているが、急性期の病態における心臓と腎臓のクロストークについては分子的なレベルでの十分な検討がなされたとは言いがたい状況であった。

AKI におけるミトコンドリア障害については、尿細管上皮細胞における検討がこの 10 年間で精力的に行われた。しかし、AKI による遠隔臓器障害としての心筋障害およびミトコンドリア機能不全についての報告はなかった。

2. 研究の目的

心臓および腎臓はミトコンドリアが豊富な細胞によって構成されている。本研究では、AKI 動物モデルを作成してミトコンドリアの形態異常および機能障害を中心とした細胞障害が腎臓のみならず心筋においても観察されるか否かを明らかとすることを第一の目的とした。次にミトコンドリア制御蛋白のどれが心筋におけるミトコンドリア障害に最も関与しているかを検証し、当該の蛋白を阻害あるいは作用増強させることで、心筋障害が軽減あるいは増悪するかを確認することを試みた。この検討によって、AKI における心筋障害の新たな創薬ターゲットが同定できると期待した。

3. 研究の方法

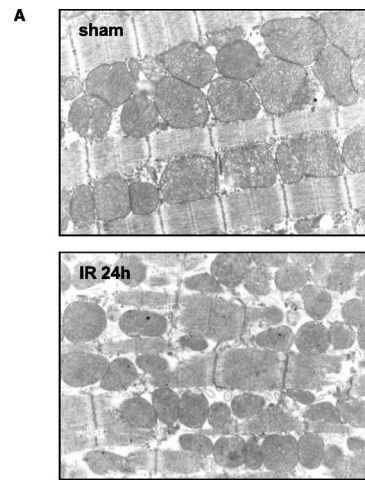
マウス腎 AKI モデルとして腎虚血再灌流障害モデルを選択した。C57/BL6 マウス(雄 10 週齢)の両側腎動脈を血管クリップにて 30 分間遮断し、再灌流 24、72 時間後に採材した心筋組織を用いて、以下の検討を行った。

1) 病理学的検討として電子顕微鏡によるミトコンドリア形態の観察特に断片化の観察、2) 活性型カスパーゼ 3、TUNEL 免疫染色によるアポトーシスの評価、2) ミトコンドリア障害およびアポトーシスを評価すべく、ミトコンドリア制御蛋白である Mfn1、Mfn2、

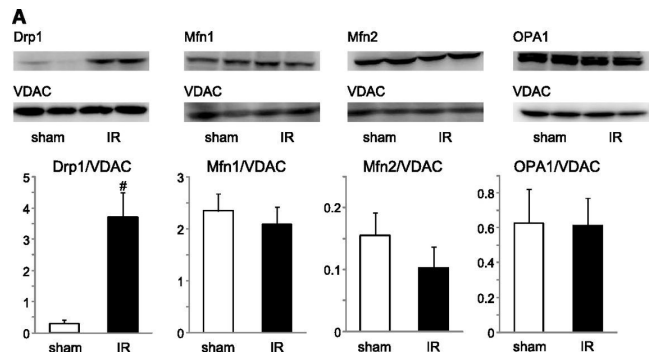
Opa1 (fusion)、Drp1 (fission)の発現解析をウェスタンブロットにて行う。心機能の評価についてはマウス心臓の観察が可能となる 9 MHz 以上の探触子を装備した超音波検査装置を用いる。

4. 研究成果

マウス腎虚血再灌流モデルにおいて心臓の病理学的評価を電子顕微鏡にて観察したところ、Sham 群と比較して有意にミトコンドリアの断片化が生じていることが明らかとなった。



心臓組織のミトコンドリア分画においては、断片化を促進する制御蛋白である Drp-1 の発現が有意に増加していた。一方、Mfn1、Mfn2、Opa1 については Sham 群と差を認めなかった。



細胞質へのチトクロームCの放出、活性化カスパーゼ3およびTUNEL陽性細胞も虚血群において特に72時間後に有意に増加しており、心機能低下(左室内径短縮率% fractional shortening (%FS)の減少)も観察された。

A Cytochrome c

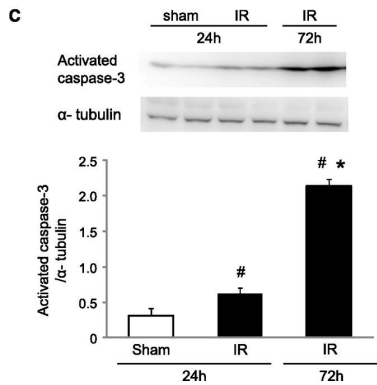
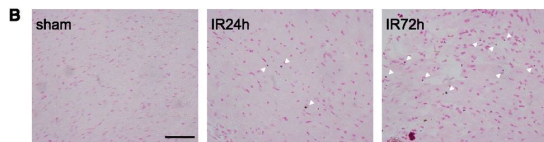
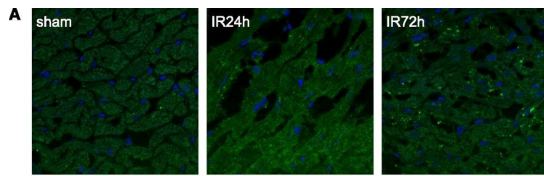
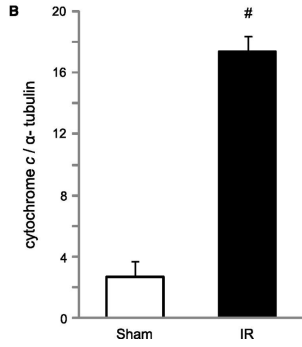
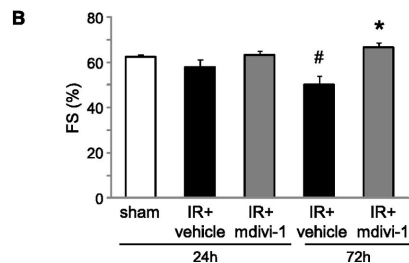
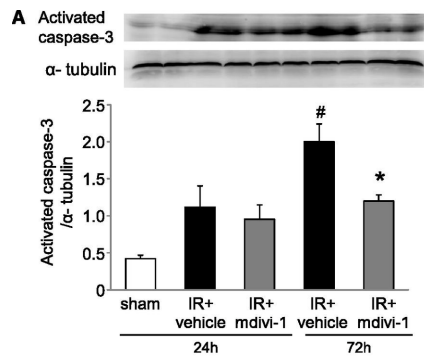
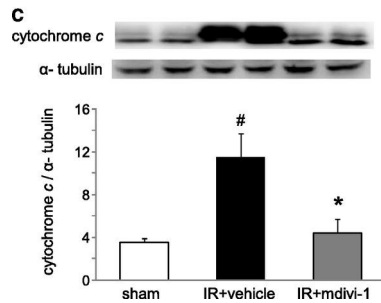
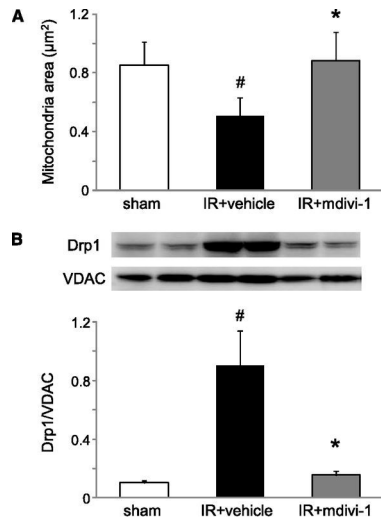


Table 1. Echocardiography after renal IR injury

Parameter	Sham	IR 24 h	IR 72 h
Heart rate (beats/min)	608±18	544±44	580±27
LVDd (mm)	2.42±0.17	2.41±0.15	2.33±0.14
LVDs (mm)	0.91±0.06	0.81±0.09	1.15±0.12
IVSW (mm)	0.86±0.06	0.75±0.03	0.95±0.02
PW (mm)	1.08±0.12	0.98±0.04	1.17±0.13
FS (%)	62.3±1.1	66.4±3.5	50.8±3.4 ^a

Values are means±SEM (n=7 in each group). LVDd, diastolic left ventricular dimension; LVDs, systolic left ventricular dimension; IVSW, intraventricular septum wall width; PW, posterior wall width; FS, fractional shortening. ^aP<0.05 versus sham.

Drp-1 阻害薬である Mdivi-1 を投与したところミトコンドリア断片化が非投与群と比べて有意に抑制され、それに続くアポトーシス、心機能障害も改善された。



一方、Mdivi-1 による腎機能保護作用は確認できなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

Sumida M, Doi K, Ogasawara E, Yamashita T, Hamasaki Y, Kariya T, Takimoto E, Yahagi N, Nangaku M, Noiri E. Regulation of Mitochondrial Dynamics by Dynamin-Related Protein-1 in Acute Cardiorenal Syndrome. J Am Soc Nephrol. 2015;26(10):2378-87.

Doi K, Rabb H. Impact of acute kidney injury on distant organ function: recent findings and potential therapeutic targets. Kidney Int. 2016;89(3):555-64.

Doi K. Kidney-Heart Interactions in Acute Kidney Injury. Nephron Clinical Practice. In press

[学会発表](計1件)

Maki Sumida, Kent Doi, Emi Ogasawara, Tetsushi Yamashita, Yoshifumi Hamasaki, Naoki Yahagi, Masaomi Nangaku, Eisei Noiri. Cardiac Mitochondria Injury Induced by Renal Ischemia: Possible Role of Heart-Kidney Crosstalk in AKI. 米国腎臓学会学術総会 2014年11月14日 Philadelphia (USA)

6. 研究組織

(1)研究代表者

土井 研人 (Doi, Kent)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号： 80505892