

## 論文の内容の要旨

論文題目      Cardiac mitochondria injury induced by renal ischemia:  
                    Possible role of heart-kidney crosstalk in AKI

(虚血再灌流傷害腎が心臓のミトコンドリア障害へ与える影響についての検討)

氏名                  住田 真貴

急性腎障害(Acute Kidney Injury, AKI)は、重症患者における予後不良な合併症として認識されている。しかし近年の医療の進歩にも関わらず、AKIによる死亡率は依然として 50–70%と高い。AKI を発症した患者は他臓器の障害も合併しやすく、AKI そのものが遠隔臓器障害を増悪させるとと言われている。腎機能障害と心機能障害が互いに関連し、症状をさらに増悪させることは以前から認識されていたが、2008 年に心腎症候群として改めて定義され、臨床研究・基礎研究両者においてさかんに研究が進められている。しかし、心腎症候群における分子メカニズムは未だに明らかではない。心臓と腎臓は共にエネルギー産生が多い臓器で、ミトコンドリアが多く含まれている。ミトコンドリアは生理的に融合、断片化を繰り返し細胞の恒常性を保っているが、虚血や低酸素などの強いストレス下では断片化優位となる。心臓、腎臓それぞれの虚血再灌流障害動物モデルにおいて、ミトコンドリア断片化優位になるとアポトーシス、引き続く臓器障害を誘発すると報告されている。ミトコンドリア形態制御蛋白には Drp1 (Dynamin-related protein 1), Mfn1/2 (Mitofusin 1/2), OPA1 (Optic atrophy 1)などがあり、Drp1 は断片化に関わり、それ以外は融合を制御している。本研究ではマウス虚血再灌流障害腎モデルを作成し、遠隔臓器である心臓のミトコンドリア障害が惹起されるかどうかを検討した。また Drp1 抑制薬である Mdivi-1 (Mitochondria division inhibitor-1)を投与し、その改善効果を評価した。

## **実験 1 マウス虚血再灌流傷害腎モデルの作成とその心臓のミトコンドリア形態の検討**

C57/BL6 マウスに両側腎動脈を 30 分間血流遮断後に解除し腎虚血再灌流障害(腎 IR)モデルを作成した。24 時間後に IR 群では sham 群と比較して、著明な血中尿素窒素(BUN)の上昇、PAS 染色で尿細管壞死を認め、IR 群の心臓を電子顕微鏡で観察したところ sham 群に比べてミトコンドリアの断片化を有意に認めた。

## **実験 2 腎 IR 後の心筋組織におけるアポトーシスと心機能障害の評価**

IR 群では sham 群に比較し、24 時間後の心筋組織におけるチトクローム C、活性化カスパーーゼ 3 の有意な上昇を認めた。活性化カスパーーゼ 3 の発現は 24 時間後よりも 72 時間後により強く認め、蛍光免疫染色でも同様の結果であった。これはアポトーシスが時間経過と共に強く起こっていることを示唆していた。心臓超音波検査では IR72 時間群で sham 群、IR24 時間群に比較し有意に FS 低下（心機能障害）を認めた。

## **実験 3 腎 IR 後の心筋組織におけるミトコンドリア形態制御蛋白発現の評価**

全心臓組織溶解液に対するミトコンドリア形態制御蛋白の解析では、断片化に関連する蛋白である Drp1、融合に関連する蛋白である Mfn1/2, OPA1、全てにおいて sham 群、IR 群で発現に有意差はなかった。しかし腎 IR24 時間後の心臓ミトコンドリア分画において、Drp1 のみ sham 群に比較して有意に発現の上昇を認めた。

## **実験 4 腎 IR 後の心機能障害に対する Mdivi-1 の効果**

Drp1 抑制薬である Mdivi-1 を腎 IR 手術の 1 時間前に投与したところ、血中 BUN の改善は認められなかつたが、電子顕微鏡におけるミトコンドリア断片化は薬剤非投与群(IR + Vehicle 群)に比較して投与群(IR + Mdivi-1 群)で有意に改善を認めた。またミトコンドリア分画では Drp1 の発現が抑制され、それに引き続くチトクローム C、活性化カスパーーゼ 3 の発現も抑制され、心機能障害の改善も認めた。

以上より本研究で腎虚血再灌流障害が遠隔臓器である心臓において、ミトコンドリア断片化とアポトーシス、その結果として心機能障害を惹起することが明らかとなり、Drp1 がこの心腎連関に重要な役割を果たしていることが示された。また Drp1 抑制薬投与(Mdivi-1)によりミトコンドリア断片化、心機能障害が改善する傾向があることが示され、急性腎傷害後の心機能障害に対する新規治療方法の開発に重要な役割を果たすと考えられた。