

Chronic treatment with an erythropoietin receptor ligand prevents chronic kidney disease-induced enlargement of myocardial infarct size

Hypertension. 2016 Sep; 68(3): 697-706. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07480. Epub 2016 Jul 25.

Nishizawa K, Yano T, Tanno M, Miki T, Kuno A, Tobisawa T, Ogasawara M, Muratsubaki S, Ohno K, Ishikawa S, Miura T.

要旨 慢性腎臓病による心筋梗塞の拡大には、心筋リンゴ酸アスパラギン酸シャトル抑制を介した Akt 活性化障害が関与し、慢性的なエリスロポエチン受容体刺激はこれらの障害を修復して心筋梗塞の拡大を予防する。

1. 研究目的

近年、慢性腎臓病と心血管疾患が相互に関連してそれぞれの病態を増悪させることが明らかになり、心腎連関と呼ばれている。腎機能の低下は、心血管イベント発症率を有意に高めるばかりでなく、急性心筋梗塞後の予後を悪化させる。急性心筋梗塞症例の主要な予後規定因子は梗塞サイズであり、慢性腎臓病が心筋梗塞サイズを増大させることが報告されているが、その機序の詳細は不明であり、直接的な治療法はない。我々は最近、急性心筋梗塞において心筋保護に重要な細胞内シグナル伝達である心筋再灌流時の Akt 活性化が、慢性腎臓病によって減弱していることを見出した。本研究では、ラット慢性腎臓病モデルを用い、慢性腎臓病による細胞内シグナル伝達系の障害と代謝障害の関連を明らかにするとともに、持続的なエリスロポエチン (EPO) 受容体刺激が心筋細胞保護シグナルの障害を修復する可能性を検討した。

2. 持続的 EPO 受容体刺激による慢性腎臓病における梗塞サイズ縮小効果

5/6腎摘による慢性腎臓病モデル (subtotal nephrectomy; SNx 群) と対照群 (Sham 群) を設け、各群に EPO 受容体作動薬であるエポエチンベータペゴル (continuous erythropoietin receptor activator; CERA 0.6 μg/kg) または vehicle を週 1 回、4 週間にわたって皮下投与した。SNx 群では Sham 群と比較して血清クレアチニン値は上昇、ヘモグロビン (Hb) 濃度は低下していた。SNx 群に対する CERA 慢性投与は、Hb 濃度を有意に改善した。術後 5 週の時点で、左冠動脈を 20 分間閉塞後に 2 時間再灌流し心筋梗塞を作成したところ、SNx+vehicle 群では、梗塞サイズが Sham+vehicle 群と比較して有意に増大した。SNx 群に対する CERA 投与は、梗塞サイズを Sham+vehicle 群と同程度まで縮小した。梗塞サイズと Hb 濃度には有意な負の相関を認めた。一方、CERA の急性投与は梗塞サイズに影響を与えなかった。

3. 持続的 EPO 受容体刺激による梗塞サイズ縮小効果と貧血改善効果の関連

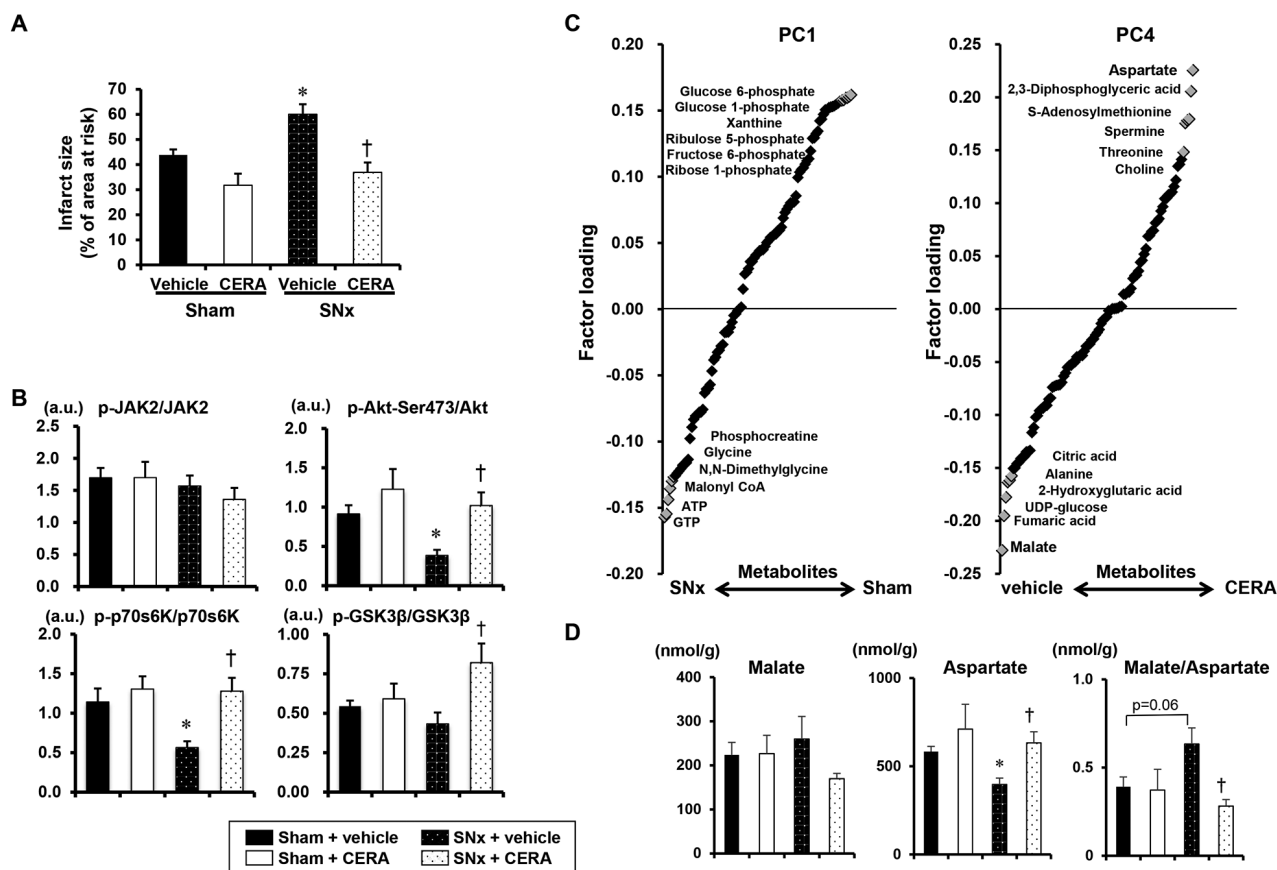
SNx+CERA 群において、CERA 投与時に尾静脈から 3 ml/kg の瀉血を行った群 (瀉血群) と瀉血を行わない対照群を設け、梗塞サイズを比較した。瀉血群は対照群と比較して梗塞サイズは増大傾向にあったが有意差はなかった。この結果から、CERA 慢性投与による心筋梗塞サイズ縮小が貧血改善によるものではないと考えられた。

4. 持続的 EPO 受容体刺激による Akt 活性化障害の修復

左冠動脈 20 分間閉塞、再灌流 5 分後の心筋組織のリン酸化及び総蛋白量をウェスタンブロット法により評価した。リン酸化 Akt, 70kDa ribosomal S6 kinase (p70s6K), glycogen synthase kinase 3β (GSK3β) の蛋白量は、Sham+vehicle 群と比較して SNx+vehicle 群で低下していたが、CERA 慢性投与はこれらの蛋白キナーゼのリン酸化を Sham 群と同程度まで回復させた。

5. 持続的 EPO 受容体刺激による心筋リンゴ酸アスパラギン酸シャトル障害の修復

キャピラリー電気泳動・質量分析装置 (CE-TOFMS および CE-MS/MS) を用いてメタボローム解析を行い 116 種の代謝物質を測定し、100 種が検出可能であった。主成分分析の結果、第一主成分により Sham 群と SNx 群を、第四主成分により SNx 群における vehicle 群と CERA 群を層別可能であった。第一主成分の因子負荷量の上位および下位の代謝物を定量的に解析した結果、グルコース 6リン酸 (G6P) とグルコース 1リン酸 (G1P) が SNx 群において Sham 群と比較して低値であったが、CERA の慢性投与は SNx 群及び Sham 群の G6P 値及び G1P 値に影響を与えなかった。一方、第四主成分の因子負荷量の最上位はアスパラギン酸、最下位はリンゴ酸であった。SNx+vehicle 群ではリンゴ酸アスパラギン酸シャトル活性の指標で



- A. 慢性腎臓病モデル (SNx) 群と対照 (Sham) 群における持続的 EPO 受容体刺激薬 (CERA) の梗塞サイズ (Infarct size) 縮小効果。
* $P < 0.05$ vs Sham+vehicle. † $P < 0.05$ vs SNx+vehicle.
- B. 慢性腎臓病と持続的 EPO 受容体刺激が JAK2, Akt, p70s6K 及び GSK3β のリン酸化に与える影響。
- C. 心筋メタボローム解析の主成分分析。
- D. 慢性腎臓病が心筋リンゴ酸 (malate) / アスパラギン酸 (aspartate) 比に与える影響とその持続的 EPO 受容体刺激による変化。

あるリンゴ酸 / アスパラギン酸比が Sham+vehicle 群と比較して 1.6 倍に上昇し、リンゴ酸アスパラギン酸シャトル活性の低下が示唆された。CERA の慢性投与は Sham 群のリンゴ酸 / アスパラギン酸比に影響を与えなかったが、SNx 群におけるリンゴ酸 / アスパラギン酸比を Sham 群と同程度まで低下させた。

6. リンゴ酸アスパラギン酸シャトル活性阻害による Akt 活性化の減弱

H9c2 心筋芽細胞にリンゴ酸アスパラギン酸シャトル活性阻害薬である aminoxyacetate (AOA) または vehicle を添加, その 45 分後に Insulin-like growth factor-1 (IGF1) または vehicle を添加し 15 分後に細胞を採取した。IGF1 投与は vehicle 投与と比較してミトコンドリア分画におけるリン酸化 Akt の蛋白量を増加させた。AOA は単独ではリン酸化 Akt の蛋白量に影響を及ぼさなかったが、IGF1 によるリン酸化 Akt の増加を抑制した。以上の結果から、心筋細胞におけるリンゴ酸アスパラギン酸シャトル活性阻害は、Akt の活性化を抑制することが示唆された。

7. 結論

持続的 EPO 受容体刺激は、慢性腎臓病による再灌流時の Akt 活性化障害を修復し、心筋梗塞サイズの増大を予防した。その Akt 活性化障害修復には、リンゴ酸アスパラギン酸シャトルの回復が関与している可能性が示唆された。

8. 参考文献

- Dikow R, Kihm LP, Zeier M, Kapitza J, Törnig J, Amann K, Tiefenbacher C, Ritz E. Increased infarct size in uremic rats: reduced ischemia tolerance? *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1530-1536.
- Miura T, Tanno M. The mPTP and its regulatory proteins: final common targets of signalling pathways for protection against necrosis. *Cardiovasc Res* 2012; 94: 181-189.

西沢 慶太郎

略歴

- 2010年 札幌医科大学医学部卒業
2012年 札幌医科大学循環器・腎臓・代謝内分泌内科学講座入局
2016年 札幌医科大学大学院卒業
2017年 JR 札幌病院腎臓内科