

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	CUI NANQI (崔 南奇)
論文審査担当者	主 査 菅野 祐 幸 副 査 樋口 京 一 ・ 田 淵 克 彦
論文題目	Adrenomedullin-RAMP2 and -RAMP3 Systems Regulate Cardiac Homeostasis during Cardiovascular Stress (アドレノメデュリン-RAMP2系・RAMP3系は、 心血管系ストレスに対して、心臓の恒常性を維持する)
【背景】	<p>アドレノメデュリン (AM) は多彩な作用を有する生理活性ペプチドであり、その活性は主として、AM の受容体 CLR に結合する受容体活性調節タンパク RAMP2 あるいは RAMP3 によって制御されている。AM あるいは RAMP2 ノックアウトマウスは、心血管系の発達不全により胎生致死となるのに対し、RAMP3 ノックアウトマウスは正常に生まれ、成体が得られることから、我々は RAMP2 と RAMP3 の機能分化に注目してきた。RAMP2、RAMP3 は心臓においても高発現しているが、その機能分化については不明である。本研究では、心筋細胞特異的 RAMP2 および RAMP3 ノックアウトマウスを用いて、心血管系ストレス応答における両者の病態生理学的意義を検討した。</p>
【方法と結果】	<p>成体マウスにおいて RAMP2 を欠損誘導すると、拡張型心筋症様所見の自然発症を認め、致死となった。これに対し、先天的な心筋細胞特異的 RAMP2 ノックアウトマウス (C-RAMP2^{-/-}) は正常に生まれ、定常状態の心機能に変化はなかった。そこで、8 週齢 C-RAMP2^{-/-}雄マウスに対して、横行大動脈縮窄術 (TAC) を行い、心血管系ストレス応答について検討した。C-RAMP2^{-/-}では、コントロールに比較し、TAC7 日目の早期から、心機能低下、心肥大、線維化が亢進し、生存率も低下した。C-RAMP2^{-/-}では、左室圧測定において dP/dt_{max} と dP/dt_{min} の両者が低下しており、左室収縮能および拡張能の低下が認められた。C-RAMP2^{-/-}の心臓では、TUNEL 染色陽性のアポトーシス細胞の増加、電顕での心筋原線維の走行異常とミトコンドリアの形態異常、ミトコンドリア関連因子の発現低下を認めた。</p> <p>次に、C-RAMP2^{-/-}の心臓より心筋細胞を初代培養して検討を行った。C-RAMP2^{-/-}の心筋細胞では、TAC 施行の有無に関わらず、細胞刺激時のカルシウムトランジェントのピークの低下と、消退の遅延が確認された。C-RAMP2^{-/-}の新生仔心筋細胞では、イソプロテレノール負荷 24 時間後に、細胞面積拡大、酸化ストレスレベルの亢進に加え、ミトコンドリア数の減少、ミトコンドリア膜電位低下、ミトコンドリア関連因子の発現低下を認めた。そこで、心筋細胞のミトコンドリアを分離し、細胞外フラックスアナライザーにて検討したところ、C-RAMP2^{-/-}ではミトコンドリア呼吸能と ATP 産生能の低下が確認された。C-RAMP2^{-/-}では、cAMP の産生低下と共に、cAMP-response element binding protein (CREB) の活性低下を認め、これがミトコンドリア新生のマスターレギュレーターである PGC-1 の発現低下とミトコンドリア機能異常につながったと考えられた。</p> <p>一方、RAMP3^{-/-}では、TAC 後 28 日目の後期になって初めて、コントロールに比較して、心機能の低下と冠動脈周囲の線維化の亢進が認められた。RAMP3^{-/-}の初代培養心筋細胞では、C-RAMP2^{-/-}で認められたミトコンドリアの異常は確認できなかった。RAMP3^{-/-}の心臓では、LYVE-1 免疫染色陽性のリンパ管数の減少を特徴的に認め、リンパ管内皮細胞のギャップ結合タンパクであるコネキシン 43 の発現低下を認めた。</p>
【結論】	<p>以上の結果から、AM-RAMP2 系は心筋細胞のミトコンドリア機能維持に必須であり、ストレス応答の早期から必要であるのに対し、AM-RAMP3 系はリンパ管の恒常性制御によって、より後期の段階でのストレス応答に必要であることが明らかとなった。AM-RAMP2 系、AM-RAMP3 系は、異なったメカニズムにより心臓の恒常性を制御しており、各々、心不全の治療標的として期待される。</p>