







学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 515 号	氏 名	福井 暁
審 査 委 員 会 委 員		主査氏名	重光 修 
		副査氏名	石崎 敏理 
		副査氏名	穴井 博文 
<p>論文題目 Role of Leptin Signaling in the Pathogenesis of Angiotensin II-Mediated Atrial Fibrosis and Fibrillation (アンギオテンシンIIによる心房線維化・心房細動発症におけるレプチンの役割)</p> <p>論文掲載雑誌名 Circulation Arrhythmia and Electrophysiology</p> <p>論文要旨 緒言：レプチンは中枢を介して摂食を調節するアディポサイトカインの一つであるが、最近、動物実験においてレプチン過剰状態が炎症や線維化を促進することが報告されるようになった。以前、筆者らはラットに Ang II を持続皮下投与することで心房の線維化が促進され、心房細動(AF)の誘発率が上昇することを報告した。今回、Ang II による心房線維化および心房細動発症にレプチンが関与しているとの仮説を立て、これを検証した。</p> <p>研究対象および方法：8 週齢雄 C57BL/6 マウス(CNT)およびレプチン欠損 ob/ob マウス(Ob)に浸透圧ミニポンプを用い、生理食塩水(VEH)または Ang II (2mg/kg/day)を持続投与した。2 週間後に経食道ペーシングおよびランゲンドルフ灌流装置を用い、電気生理学的検査および AF の誘発試験を行った。また、心臓を摘出し、左房の線維化を Masson Tricrome 染色および Hydroxyproline にて評価し、左房の RT-PCR にて線維化・炎症マーカーを測定した。さらに、SD ラットおよびレプチン受容体に遺伝子変異がありレプチンシグナルが機能しない Zucker ラットの心房より線維芽細胞を単離培養し、in vivo にてレプチンの炎症・線維化効果を確認した。</p> <p>結果：CNT マウスでは、Ang II 投与にて左房のレプチン発現が局所的に増加していた。CNT-VEH と比較し、CNT-Ang II 群では心房細動の誘発率が上昇したのに対し、Ob-Ang II 群では心房細動は誘発されなかった。摘出心において、CNT-Ang II 群では左房の線維化亢進が認められたが、Ob-Ang II 群では、これが抑制されていた。また、左房の RT-PCR にて CNT-Ang II 群で上昇を認めた。coll1, col3, TGF-β1, α-SMA の線維化マーカー、F4/80, MCP-1, RANTES の炎症マーカーはいずれも Ob-Ang II にて有意に抑制されていた。SD ラット心房線維芽細胞を使用した培養細胞実験においては、Ang II 100nM の 24 時間投与にて、in vivo でも認められた TGF-β1, α-SMA, MCP-1, RANTES の発現亢進も確認され、この変化はレプチン受容体偏位のある Zucker ラットの線維芽細胞では認められなかった。</p> <p>結論：レプチンは Ang II から炎症性線維化をきたすシグナルの下流因子の 1 つであり、Ang II によって惹起される心房の線維化および心房細動発症に必須であることが示された。レプチンシグナルは心房細動治療の新たな治療標的となりうると考えられた。</p> <p>本研究は、レプチンは、Ang II によって惹起される心房の線維化および心房細動発症に必須であり、レプチンシグナルは心房細動治療の新たな治療標的になりうることを示した。</p> <p>このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験
の結果の要旨
学力の確認

審査区分 ①・論	第 515 号	氏 名	福井 暁
審 査 委 員 会 委 員		主査氏名	重光 修 
		副査氏名	石崎 敏理 
		副査氏名	穴井 博文 
<p>学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. アンジオテンシンII (Ang II) 投与で8週齢C57BL/6マウス (CNT) もレプチン欠損ob/obマウス (Ob) も心重量の増加より心筋肥大がおこり、CNTはさらに線維化も起こり、Obでは線維化が起こっていない。一方、CNT-Ang II でAFの頻度と時間が増大しているが、Ob-Ang II では全く見られていない。Ang II 負荷により血圧が上昇し左心系の筋肥大が起こると、それだけでもAFが増加すると思われるがどうか。 2. Ang II 投与で、血漿レプチンが減少する機序はなにか。 3. AFの発生機序は、マウスと人で同じと考えてよいのか。 4. Ang II 投与後、心筋組織で著明なレプチンの発現上昇を確認しているが、レプチンを発現しているのは心筋の線維芽細胞以外に心筋細胞などでは発現誘導は見られないのか。 5. Ang II 投与により誘導されるレプチンの発現について、ARBを介した反応であるのかをARB阻害薬を用いて検討したか、またAng II によるレプチン発現誘導はどのような情報伝達経路を介しているのか。 6. レプチンの発現により、心筋で線維化が観察されているが、どのような情報伝達経路を介したもののなのか。 7. 実験にはob/obマウスを用いているが、レプチン受容体遺伝子異常を有する遺伝性肥満マウス (db/dbマウス) でも同様の表現型は確認されるのか。 8. 経食道ペーシングを行った実験と、摘出心を用いた実験は同一のマウスを用いたものか、別系統の実験なのか。 9. Ang II 投与後の血中濃度は、臨床像で見られる腎性高血圧のAng II に比しどの程度の血中濃度に達するのか。投与量はAng II に関する研究において、標準的量があつて、それに準じているのか。 10. Results, Serum parameters (Table) に関して、Ang II 投与後、レプチン欠損群において血糖とインスリンが低下しているのはどういう機序によるものか。 11. 論文の内容から、高血圧症と肥満合併例はAf発症のリスクが高いと言えよう。臨床応用を考えた場合、Ang II レセプターを介してレプチン誘導が起こると言えるのかとの疑問点を踏まえ、リスク回避には、ARBとACE阻害剤のいずれが妥当と考えるか。 <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 福井 暁

論 文 題 目

Role of Leptin Signaling in the Pathogenesis of Angiotensin II-Mediated Atrial Fibrosis and Fibrillation.

(アンジオテンシン II による心房線維化および心房細動発症におけるレプチンの役割)

要 旨

背景：レプチンは中枢を介して摂食を調節するアディポサイトカインの一つであるが、最近、動物実験においてレプチン過剰状態が炎症や線維化を促進することが相次いで報告されるようになった。

心不全や腎不全患者では、アンジオテンシン II (AngII) の血中濃度が上昇しており、これらの患者に心臓間質の線維化をもたらしている。以前、我々はラットに AngII を持続皮下投与することで心房の線維化が促進され、心房細動 (AF) の誘発率が上昇することを報告した (Wakisaka et al. J Mol Cell Cardiol, 2007)。

目的： AngII による心房線維化・心房細動発症にレプチンが関与しているとの仮説を立て、これを検証した。

方法：8 週齢雄 C57BL/6 マウス (CNT) およびレプチン欠損 ob/ob マウス (Ob) に浸透圧ミニポンプを用い生理食塩水 (VEH) または AngII (2 mg/kg/day) を持続投与した。2 週間後に経食道ペーシングおよびランゲンドルフ灌流装置を用い、電気生理学的検査および AF の誘発試験を行った。また、心臓を摘出し、左房の線維化を Masson Tricrome 染色および Hydroxyproline にて評価し、左房

の RT-PCR にて線維化・炎症マーカーを測定した。さらに、SD ラットおよびレプチン受容体に遺伝子変異がありレプチンシグナルが機能しない Zucker ラットの心房より線維芽細胞を単離培養し、in vitro にてレプチンの炎症・線維化効果を確認した。

結果：CNT マウスでは、AngII 投与にて左房のレプチン発現が局所的に増加していた。CNT-VEH と比較し、CNT-AngII 群では心房細動の誘発率が上昇したのに対し、Ob-AngII 群では心房細動は誘発されなかった。摘出心において、CNT-AngII 群では心房間伝導時間の延長が認められたが、Ob-AngII 群では、この延長は認められなかった。CNT-AngII 群では左房の線維化亢進が認められたが、Ob-AngII 群ではこれが抑制されていた。また、左房の RT-PCR にて CNT-AngII 群で上昇を認めた、coll1, col3, TGF- β 1, α -SMA の線維化マーカー、F4/80, MCP-1, RANTES の炎症マーカーはいずれも Ob-AngII にて有意に抑制されていた。SD ラット心房線維芽細胞を使用した培養細胞実験においては、AngII 100 nM の 24 時間投与により、線維芽細胞におけるレプチン発現の上昇が確認された。さらに、レプチン 100 ng/ml の 24 時間投与にて、in vivo でも認められた TGF- β 1, α -SMA, MCP-1, RANTES の発現亢進も確認され、この変化はレプチン受容体変異のある Zucker ラットの線維芽細胞では認められなかった。

結論：レプチンは AngII から炎症性線維化をきたすシグナルの下流因子の一つであり、AngII によって惹起される心房の線維化および心房細動発症に必須であることが示された。レプチンシグナルは心房細動治療の新たな治療標的となり得ると考えられた。