

授乳期に心肥大変化を惹起する原因因子の探索

分担研究者 大谷健太郎 国立循環器病研究センター研究所

研究要旨

近年、我々は心臓由来の循環ホルモンであるナトリウム利尿ペプチド(ANP・BNP)の受容体 GC-A の遺伝子欠損マウス(GC-A-KO)が、授乳期に周産期心筋症様の心機能低下を伴う心肥大・心線維化を呈することを見出した。本研究では、GC-A-KO において授乳期心肥大変化を惹起する原因因子の特定を目的に、従来ナトリウム利尿ペプチド系と拮抗関係にあることが知られているレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系に着目して検討を行った。その結果、GC-A-KO では授乳により血漿アルドステロン濃度の有意な上昇を認め、かつ授乳期に選択的アルドステロン阻害剤を投与することで、GC-A-KO における授乳期心肥大は有意に抑制された。このことから、GC-A-KO の授乳期心肥大にアルドステロンが関与する可能性が明らかとなり、内因性 ANP・BNP/GC-A 系はアルドステロンの過剰分泌を抑制することで、授乳期に心保護的に作用していることが明らかとなった。

A. 研究目的

周産期心筋症は心疾患既往のない女性が産褥期に心不全を発症する母体間接死亡原因の上位疾患である。発症原因は未だ不明であり、かつ現時点での治療法は対症療法に限られている。

近年、我々は心臓で産生・分泌される循環ホルモンである ANP・BNP(心房性・脳性ナトリウム利尿ペプチド)の受容体 Guanylyl Cyclase-A(GC-A)の遺伝子欠損マウス(GC-A-KO)が、授乳によって心機能低下を伴う顕著な心肥大・心線維化を呈することを見出した。産褥期に母体心に急激な心不全変化を生じることから、GC-A-KO は周産期心筋症のモデルマウスである可能性が示唆された。しかし、なぜ授乳期に心肥大変化を呈するのか、その原因は未だ不明である。

従来、ナトリウム利尿ペプチド系はレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系(RAAS系)と拮抗関係にあることが知られている。そのため、GC-A-KO における授乳期心肥大はRAAS系の過

剰亢進により惹起される可能性が考えられた。ところが、アンジオテンシン II の受容体 AT1a の遺伝子欠損マウス(AT1a-KO)や、種々の細胞特異的 AT1a コンディショナルノックアウトマウスは、授乳期に野生型マウス(WT)と同程度の心肥大変化を呈することから、GC-A-KO における授乳期心肥大へのアンジオテンシン II/AT1a の関与は少ないと考えられる。しかし、GC-A-KO の授乳期心肥大へのアルドステロンの影響については未だ不明である。

本研究は、GC-A-KO の授乳期心肥大変化における、アルドステロン/ミネラルコルチコイド受容体(MR)系の関与を明らかにすることを目的に検討を行った。

B. 研究方法

10週齢の雌性 WT および GC-A-KO マウスを対象とした。

1. 血中アルドステロン濃度への授乳の影響

始めに、授乳によって血中アルドステロン濃度
が変化するか否か検討を行った。未妊娠および授
乳(授乳 2 週目)マウスを麻酔し、腹部切開の後、
下大静脈より採血した。血漿を分離し、アルドス
テロン濃度を ELISA (Enzo Life Sciences 社) によ
り定量評価した。

2. 選択的アルドステロン阻害剤の効果の検討

次に、授乳期にのみ選択的アルドステロン阻害
剤を投与することにより、GC-A-KO の授乳期心
肥大が抑制され得るか否か検討を行った。WT お
よび GC-A-KO に、出産直後よりエプレレノン
(Pfizer 社より無償供与) 含有餌 (1.25g/kg) ある
いはコントロール餌を投与した。2 週間後、tail
cuff 法による血圧測定 (ソフトロン社、BP-98A)
および心重量測定を行った。心重量は脛骨長にて
標準化し、比較検討を行った。

(倫理面への配慮)

マウスを用いた動物実験は実験動物愛護に充
分配慮し、かつ動物実験計画書を国立循環器病研
究センター動物実験委員会に提出し、承認を受け
た上で実施した。

C. 研究結果

1. 授乳は血中アルドステロンを増加させる

未妊娠時にはWTとGC-A-KOの間で血漿アルド
ステロン濃度に有意な差は認めなかった。ところが
、授乳2週目のGC-A-KOの血漿アルドステロン
濃度は、WTに比し、有意に高値であった(図1)。

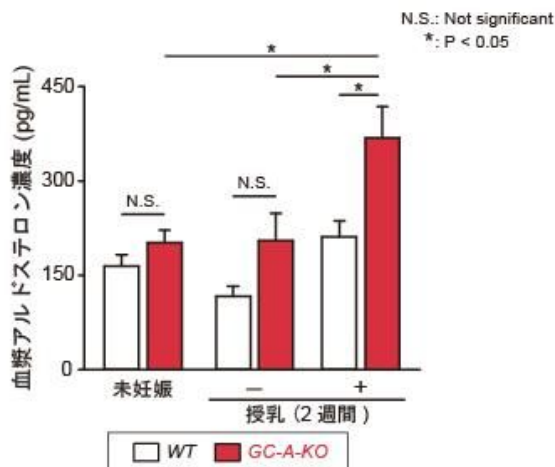


図1. 血漿アルドステロン濃度への授乳の影響

加えて、出産直後に仔を強制離乳することで、
GC-A-KOにおける血漿アルドステロン濃度の有
意な上昇が消失したことから、GC-A-KOでは授乳
期にアルドステロンの分泌が亢進することが裏付
けられた。

2. 選択的アルドステロン阻害剤の効果

授乳2週目の母獣血圧は、WTに比し、GC-A-KO
で有意に高値であった。しかし、授乳期にエプレ
レノンを投与しても、WT、GC-A-KOともに収縮
期血圧の有意な低下は認めなかった(図2)。

また、授乳2週目の母獣の心重量は、餌の種類に
かかわらず、WTに比しGC-A-KOで有意に大であ
った。

ところが、

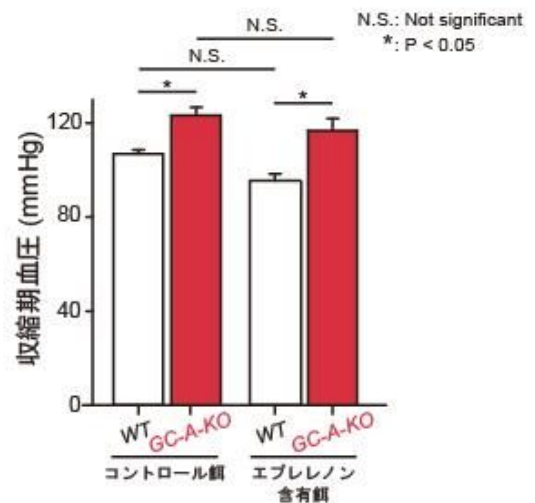


図2. 授乳マウスの血圧に対するエプレレノン投与の影響

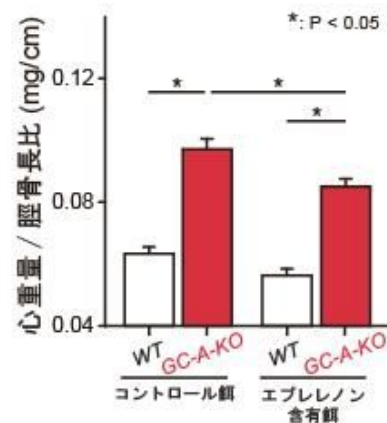


図3. 授乳マウスの心重量に対するエプレレノン投与の影響

GC-A-KOの心重量はエプレレノン含有餌を投与
することにより、コントロール餌投与群に比し、
有意に低値となった(図3)。

D. 考察

本研究の結果、授乳期に顕著な心肥大変化を呈する GC-A-KO では、血漿アルドステロン濃度の有意な上昇が認められた。また、授乳中に選択的アルドステロン阻害剤を投与することにより、血圧への影響は軽微であったが、GC-A-KO における授乳期心肥大変化は有意に抑制された。これらの結果から、アルドステロンが GC-A-KO における授乳期心肥大の原因因子である可能性が示唆された。

従来、ANP/GC-A 系はアルドステロンの分泌抑制作用を有することが知られており、GC-A-KO では内因性のアルドステロン分泌抑制機構の欠損により、授乳期に過剰なアルドステロン分泌が誘発され、その結果、心肥大変化が惹起されたと推察された。

以上の結果から、ナトリウム利尿ペプチド (ANP/GC-A) 系およびアルドステロン/MR 系は、周産期心筋症に対する新たな治療標的となり得る可能性が示唆された。

E. 結論

授乳期における血中アルドステロン濃度の顕著な上昇が、母体心に心肥大変化を惹起する可能性が示唆された。また、内因性 ANP・BNP/GC-A 系は、授乳期のアルドステロンの過剰な上昇を抑制することにより、心保護的に作用していると考えられる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Ohshima M, Coq JO, Otani K, Hattori Y, Ogawa Y, Sato Y, Harada-Shiba M, Ihara M, Tsuji M: Mild intrauterine hypoperfusion reproduces neuro-

developmental disorders observed in prematurity. **Sci Rep** 6: 39377, 2016.

2. 学会発表

徳留健、大谷健太郎、西村博仁、宮里幹也：遠位尿細管・集合管特異的 AT1a ダブルノックアウトマウスの表現型解析. 第 39 回日本高血圧学会総会、仙台、9月30日～10月2日、2016年.

大谷健太郎、徳留健、神谷千津子、西村博仁、岸本一郎、寒川賢治：周産期心筋症患者ゲノムにおけるナトリウム利尿ペプチド関連遺伝子の多型性解析. 第 21 回日本心血管内分泌代謝学会、東京、12月16日～12月17日、2016年.

西村博仁、徳留健、大谷健太郎、寒川賢治：血管内皮 ANP/GC-A 系を介した血圧調節作用のメカニズム解析. 第 21 回日本心血管内分泌代謝学会、東京、12月16日～12月17日、2016年.

野尻崇、徳留健、西村博仁、大谷健太郎、三浦浩一、細田洋司、日野純、宮里幹也、寒川賢治：ANP の腫瘍血管制御による新しい癌治療戦略. 第 46 回日本心脈管作動物質学会、沖縄、2月10日～2月11日、2017年.

大谷健太郎、徳留健、神谷千津子、西村博仁、池田智明：周産期心筋症発症における内因性ナトリウム利尿ペプチド系の関与. 第 4 回周産期心筋症ミーティング、金沢、3月18日、2017年.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

研究協力者：

国立循環器病研究センター研究所 生化学部

徳留 健

西村博仁