

氏名 かたおか なおや 片岡 直也

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 富医薬博甲第 173 号

学位授与年月日 平成 27 年 3 月 31 日

学位授与の要件 富山大学学位規則第 3 条第 3 項該当

教育部名 富山大学大学院医学薬学教育部 博士課程
生命・臨床医学専攻

学位論文題目 Effect of irbesartan on development of atrial fibrosis and atrial fibrillation in a canine atrial tachycardia model with left ventricular dysfunction; possible involvement of p53-microRNA34a-SIRT1 feedback-loop pathway
(左室収縮能低下を伴うイヌ心房高頻度刺激モデルにおける心房線維化および心房細動の進展に対するイルベサルタンの効果；それには p53-microRNA34a-SIRT1 フィードバック経路が関与している可能性がある)

論文審査委員

(主査)	教授	芳村 直樹
(副査)	教授	田村 了以
(副査)	教授	服部 裕一
(副査)	教授	戸邊 一之
(指導教員)	教授	井上 博

論文内容の要旨

〔目的〕

心房細動は代表的な持続性不整脈で、予後を悪化させる疾患である。レニン・アンジオテンシン (Ang) 系の亢進に伴う心房線維化が病因の一つとされ、Ang II 阻害が心房細動の抑制に有効と報告されている。また近年、癌抑制遺伝子として知られるp53が心臓線維芽細胞からのコラーゲン産生を抑制し、Ang IIはp53を抑制する事で心室線維化を引き起こすことが報告された。さらにp53とノン・コーディングRNAの一種であるmicroRNA-34a (miR34a)、そして長寿遺伝子として知られるsirtuin 1 (SIRT1) がループを形成して相互に作用し合う事が明らかとなっている。しかし、p53-miR34a-SIRT1経路の心房線維化および心房細動への関与は、未だ明らかではない。

今回私は、Ang II亢進モデルである心房高頻度刺激モデル犬を用い、臨床例で心房細動再発抑制に有効であったと報告されているAng II受容体拮抗薬、イルベサルタン、を投与して、心房細動抑制効果の有無を評価するとともに、その過程におけるp53-miR34a-SIRT1経路の関与の可能性を検討した。

〔方法並びに成績〕

イヌ15頭に対し、右心耳にペースメーカー (PM) 電極と電気生理検査用電極を植え込み、うち11頭で毎分400回の心房高頻度刺激を4週間行った。11頭中の6頭には偽薬 (偽薬群) を、5頭にはイルベサルタン (50 mg/kg/日、イルベサルタン群) を投与した。投与は心房高頻度刺激の7日前から開始し、実験終了まで継続した。実験中は1週毎に、心電図でP波の持続時間を、心臓超音波検査で左室拡張末期径、左室収縮末期径、左房面積を、心臓電気生理検査で心房連続刺激による心房細動の誘発率と、誘発された心房細動の持続時間、心房有効不応期 (AERP) を測定した。最終週には開胸下で、右心耳と左心耳間の興奮伝導時間を測定し、各心腔内圧および大動脈圧を侵襲的に測定した。その後、左房自由壁を採取し、マッソン・トリクローム染色による線維化の評価、RT-PCR法によるmiR34a発現の定量評価、ウェスタンブロット法によるp53、SIRT1、トランスフォーミング増殖因子 (TGF) - β 1発現の定量評価を行い、残り4頭の偽手術群 (PM無作動+無投薬) と比較した。

偽薬群とイルベサルタン群において、年齢、体重、開胸時の各心腔内圧、大動脈圧に有意な差は無かった。また左室拡張末期径、左室収縮末期径および左房面積は、心房高頻度刺激によって、偽薬群とイルベサルタン群の両群とも有意に拡大したが、いずれも2群間での有意差は見られなかった。

心房細動誘発率と持続時間は、偽薬群で1週目から有意に上昇および延長したが、その変化はイルベサルタン群で有意に抑制された。心房有効不応期やP波長は、経時的な変化はなく、両群間でも有意な差は見られなかったが、開胸後の心房内伝導時間は偽薬群でイルベサルタン群より有意に延長した。左房における線維化面積は偽薬群で偽手術群と比較して増加がみられたが、イルベサルタン群では偽薬群より線維化面積が52%減少し、その面積は偽手術群と同等であった。

偽手術群と比較し偽薬群では、心房高頻度刺激によってp53が42%、miR34aが23%減少し、SIRT1が48%増加した。一方でイルベサルタン群では偽薬群と比較し、p53が89%、miR34aが134%増加し、SIRT1が15%減少した。イルベサルタン群のp53とmiR34aは、偽手術群と比較しても約2倍に増加した。線維芽細胞増殖や線維芽細胞からの細胞外基質産生を誘導するTGF- β 1は、偽薬群で偽手術群より有意に増加したが、イルベサルタン群では偽手術群と同等に抑制された。

〔総括〕

イルベサルタンは心房高頻度刺激モデル犬において、心房線維化を抑制、心房内伝導時間を回復し、心房細動の誘発率と持続時間を抑制した。また心房高頻度刺激モデル犬ではp53とmiR34aの発現抑制、SIRT1の発現亢進、加えてTGF- β 1の発現亢進と線維化の増加がみられた。一方で、イルベサルタン投与群では上記変化が打ち消された。以上より、Ang II亢進に伴う心房線維化と心房細動の発症に、p53-miR34a-SIRT1経路が関与している可能性が新たに示唆された。

本研究にはいくつかの課題が残る。第一に、ヒトでの使用量をはるかに超える用量のイルベサルタンが投与された。第二に、左房組織には心筋細胞以外に筋線維芽細胞等が含まれるが、どの細胞種が本研究で観察された p53-miR34a-SIRT1 経路の変化を引き起こしたか不明である。第三に、p53-miR34a-SIRT1 経路の変化自身が心房線維化を引き起こしたのか、それとも心房線維化過程に伴う副次的反応なのかは不明である。今後は左房組織から細胞種別に単離・培養を行い、高頻度刺激下における SIRT1 阻害薬や miR34a 導入の影響を検討する必要がある。

学位論文審査の要旨

〔目的〕

レニン・アンジオテンシン (Ang) 系の亢進に伴う心房線維化が心房細動の病因の一つとされ、Ang II阻害が心房細動の抑制に有効と報告されている。また近年、癌抑制遺伝子として知られるp53が心臓線維芽細胞からのコラーゲン産生を抑制し、Ang IIはp53を抑制する事で心室線維化を引き起こすことが報告された。さらにp53とノン・コーディングRNAの一種であるmicroRNA-34a (miR34a)、そして長寿遺伝子として知られるsirtuin 1 (SIRT1)がループを形成して相互に作用し合う事が明らかとなっている。しかし、p53-miR34a-SIRT1経路の心房線維化および心房細動への関与は、未だ明らかではない。そこで片岡直也君は、Ang II亢進モデルである心房高頻度刺激モデル犬を用い、Ang II受容体拮抗薬であるイルベサルタンを投与して、心房細動抑制効果の有無を評価するとともに、その過程におけるp53-miR34a-SIRT1経路の関与の可能性を検討した。

〔方法〕

ビーグル犬15頭に対し、右心耳にペースメーカー (PM) 電極と電気生理検査用電極を植え込み、うち11頭で毎分400回の心房高頻度刺激を4週間行った。11頭中の6頭には偽薬 (偽薬群) を、5頭にはイルベサルタン (50 mg/kg/日、イルベサルタン群) を投与した。投与は心房高頻度刺激の7日前から開始し、実験終了まで継続した。実験中は1週毎に、心電図でP波の持続時間、心臓超音波検査で左室拡張末期径、左室収縮末期径、左房面積、心臓電気生理検査で心房連続刺激による心房細動の誘発率と誘発された心房細動の持続時間、心房有効不応期を測定した。

投与は心房高頻度刺激の7日前から開始し、実験終了まで継続した。実験中は1週毎に、心電図でP波の持続時間、心臓超音波検査で左室拡張末期径、左室収縮末期径、左房面積、心臓電気生理検査で心房連続刺激による心房細動の誘発率と誘発された心房細動の持続時間、心房有効不応期 (AERP) を測定した。

〔結果〕

偽薬群とイルベサルタン群において、年齢、体重、開胸時の各心腔内圧、大動脈圧に有意な差は無かった。また左室拡張末期径、左室収縮末期径および左房面積は、心房高頻度刺激によって、偽薬群とイルベサルタン群の両群とも有意に拡大したが、いずれも2群間での有意差は見られなかった。

心房細動誘発率と持続時間は、偽薬群で1週目から有意に上昇および延長したが、その変化はイルベサルタン群で有意に抑制された。心房有効不応期やP波長

は、経時的な変化はなく、両群間でも有意な差は見られなかったが、開胸後の心房内伝導時間は偽薬群でイルベサルタン群より有意に延長した。左房における線維化面積は偽薬群で偽手術群と比較して増加がみられたが、イルベサルタン群では偽薬群より線維化面積が52%減少し、その面積は偽手術群と同等であった。

偽手術群と比較し偽薬群では、心房高頻度刺激によってp53が42%、miR34aが23%減少し、SIRT1が48%増加した。一方でイルベサルタン群では偽薬群と比較し、p53が89%、miR34aが134%増加し、SIRT1が15%減少した。イルベサルタン群のp53とmiR34aは、偽手術群と比較しても約2倍に増加した。線維芽細胞増殖や線維芽細胞からの細胞外基質産生を誘導するTGF- β 1は、偽薬群で偽手術群より有意に増加したが、イルベサルタン群では偽手術群と同等であった。

〔総括〕

今回、片岡直也君は、①イルベサルタンは心房高頻度刺激モデル犬において、心房線維化を抑制、心房内伝導時間の延長を抑制し、心房細動の誘発率と持続時間を抑制すること、②心房高頻度刺激モデル犬ではp53とmiR34aの発現抑制、SIRT1の発現亢進、TGF- β 1の発現亢進と線維化の増加がみられ、イルベサルタンを投与することによりこれらの変化を抑制するという新知見を見出した。今回得られた種々の結果より、Ang II亢進に伴う心房線維化と心房細動の発症に、p53-miR34a-SIRT1経路が関与している可能性が新たに示唆された。

本研究の成果は、適切な動物モデルを用い、イルベサルタンによる心房細動治療の可能性をその作用機序とともに探求したという点から高く評価できる。よって本審査委員会は本研究を博士（医学）の学位に十分値するものと結論した。