慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Interleukin-6 Family of Cytokines Mediate Angiotensin II-induced Cardiac Hypertrophy in Rodent Cardiomyocytes.
Sub Title	アンジオテンシンIIによるIL-6族サイトカインの誘導と心肥大における意義
Author	佐野, 元昭(Sano, Motoaki)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.4 (2005. 12) ,p.19-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0019

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Interleukin-6 Family of Cytokines Mediate Angiotensin Ⅱ-induced Cardiac Hypertrophy in Rodent Cardiomyocytes.

（アンジオテンシンⅡによるIL-6族サイトカインの誘導と心肥大における意義）

佐　野　　元　昭

内容の要旨

アンジオテンシンⅡ（AngⅡ）はAT1受容体を介して心筋細胞肥大と心線維芽細胞増殖を引き起こすことが知られている。しかし、心筋細胞ではAT1受容体が心線維芽細胞に比して1/10以下しか発現していないにも拘らず、ACE阻害薬やAT1受容体拮抗薬が心臓の線維化や心肥大も抑制することに対する説明はなされていない。この現象はAngⅡが直接心筋細胞に作用するのではなく、心筋細胞－心線維芽細胞間の神経体液性因子を介したクロストークにより心肥大を形成するという仮説により説明しうる。HaradaらはAngⅡが心筋細胞単独の培養では心筋細胞肥大を惹起せず、心線維芽細胞との共培養系においてのみ心筋細胞肥大を促進すること、この作用はET-A受容体拮抗薬により55%抑制されること、AngⅡが心線維芽細胞からエンドセリン（ET）-1の分泌を促進することから、AngⅡによる心肥大作用は部分的には心線維芽細胞から分泌されるET-1を介していると報告した。しかし、ET-A受容体拮抗薬による抑制効果が55%しかないことからET-1以外の他のパラクリン心肥大促進因子も重要な役割を果たしている可能性が残された。

IL-6族サイトカインはgp130受容体を共有し程度の差はあるもののすべてが心肥大促進作用を有することが報告されている。なかでも白血病抑制因子leukemia inhibitory factor（LIF）とcardiotrophin-1（CT-1）は強力な心肥大促進作用を持つことが知られている。我々はこれまでLIFが培養心筋細胞でJAK/STAT系を活性化し心肥大を惹起することを報告してきた。

本研究では、ラット新生児心筋細胞と心線維芽細胞を分離培養し、心線維芽細胞をAngⅡ刺激した際の心線維芽細胞の変化と培養上清中のIL-6族サイトカインのパラクリン作用を観察した。その結果、(1) AngⅡ刺激はAT1受容体を介して心線維芽細胞においてIL-6、LIF、CT-1のmRNAを誘導し、IL-6の培養上清中への分泌を増加させること、(2) AngⅡ刺激により心線維芽細胞培養上清中に心筋細胞のgp130受容体やSTAT3のリン酸化を惹起し、心筋細胞を肥大させるパラクリン因子が分泌されること、(3) gp130受容体のブロッキング抗体RX435によりIL-6族サイトカインの作用を特異的に阻害すると心筋細胞に対するこれらのパラクリン作用が部分的に抑制されること、(4) 心線維芽細胞のCT-1とLIFの発現をアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いてKnock downするとAngⅡにより刺激した心線維芽細胞の培養上清の持つ心筋細胞肥大促進作用が抑制されることを示した。以上の結果から、AngⅡ刺激による心肥大現象において心線維芽細胞から分泌されたIL-6族サイトカイン、主としてCT-1とLIFがパラクリン因子として重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

この論文はレニン・アンジオテンシン系とIL-6族サイトカインの間に心線維芽細胞を介した密接なクロストークがあり、心肥大、リモデリングの形成に重要な役割を持つことを示した最初の報告である。ACE阻害薬やAT1受容体拮抗薬はこの神経体液性因子のパラクリン作用を断ち切ることにより心肥大、心リモデリング抑制効果を発揮していると考えられた。

論文審査の要旨

本論文は、(1) アンジオテンシンⅡが心線維芽細胞においてIL-6、LIF、CT-1のmRNAを誘導し、少なくともIL-6の分泌を増加させること、(2) アンジオテンシンⅡ刺激により心線維芽細胞培養上清中に心筋細胞のgp130やSTAT3のリン酸化を惹起し、[^{3}H]-Phenylalanineの取り込みや細胞面積を増加させるパラクリン因子が分泌されること、(3) RX435によりIL-6族サイトカインの作用を阻害することにより心筋細胞に対するこれらのパラクリン作用が部分的に抑制されること、(4) 心線維芽細胞にCT-1とLIFのアンチセンスオリゴヌクレオチドを遺伝子導入することによりアンジオテンシンⅡにより刺激した心線維芽細胞の培養上清の持つ心肥大促進作用が抑制されることを示した。以上の結果は、アンジオテンシンⅡ刺激による心肥大現象において心線維芽細胞から分泌されたIL-6族サイトカイン、主としてCT-1とLIFが重要な役割を果たしていることを意味し、神経体液性因子を介したクロストークの心肥大形成における重要性を明らかにした。

審査に際して、アンジオテンシンやエンドセリンなどのG蛋白結合型受容体を介する血管作動性物質とIL-6族サイトカインによる心筋細胞肥大の相違に関して質問があった。これに対して、G蛋白結合型受容体を介する血管作動性物質では臨床的には圧負荷モデルに認められるタイプの心筋細胞の短軸方向への伸長が生じ、対照的にIL-6族サイトカインでは、容量負荷モデルに認められるタイプの心筋の長軸方向への伸長が認められるという回答がなされた。

さらに、個々の研究方法に関して詳しい説明を要求された。すなわち、心筋細胞のみを心筋から分離、培養する方法とその特異性の問題、心筋細胞の研究に特異的な細胞肥大を測定する方法に関した生理学的な根拠について質問がなされた。これに対し、心筋細胞をそれ以外の細胞と分離する際には、おのおのの細胞比重の違いを利用したパーコール密度勾配法と、心筋細胞が他の細胞と比して培養ディッシュの底へ付着しにくい性質を組み合わせた方法で、95%以上の純度の心筋細胞培養系が得られること（心筋特異的抗体を利用した免疫科学染色法により確認済）、一方、心筋細胞の肥大は必須アミノ酸のフェニルアラニンの心筋細胞への取り込みからタンパク合成能を推定することによって検討できること、その際に心筋細胞は細胞周期から逸脱した細胞であるためDNA合成能の変化（細胞増殖）を考慮した補正の必要が必ずしも必要でない、と回答された。

最後に、アンジオテンシンⅡのAT1受容体とAT2受容体の作用の違いに関して質問がなされた。すなわち、臨床的な心肥大、心不全が単にAT1受容体の活性化だけで説明できるものではなく、AT1受容体とAT2受容体を介するシグナルの不均衡によって生じている可能性はないかという問題提起であった。これに対して申請者は、心線維芽細胞からのIL-6族サイトカインの誘導は、AT1受容体とAT2受容体にそれぞれ特異的な拮抗薬を用いた検討から、AT1受容体を介するものであると考えた。しかし、AT2受容体を介する生理作用はAT1受容体を介するものと比べまだ充分に解析がなされておらず、またAT2受容体がNOの産生を介して逆に心筋の線維化を抑制するとの報告もあることから非常に興味深い今後の課題であるとの意見が述べられた。

以上、研究背景、目的も明確であり、一部今後検討されるべき内容も指摘されたが、博士課程修了者と同程度以上の内容と学識があることが確認された。

論文審査担当者　主査　内科学　小川　聡
　　外科学　四津　良平　　医化学　末松　　誠
微生物学・免疫学　小安　重夫
学力確認担当者：北島　政樹、四津　良平
　審査委員長：四津　良平

試問日：平成17年 7月25日