

田中協栄 論文内容の要旨

主 論 文

**Aldosterone Induces Circadian Gene Expression of Clock Genes in H9c2
Cardiomyoblasts**

(H9c2 心筋芽細胞においては、アルドステロンが時計遺伝子発現の概日リズムを誘発する)

田中協栄、芦澤直人、河野浩章、佐藤修身、瀬戸信二、西原永潤、寺菌英之、磯本正二郎、篠原一之、矢野捷介

(Heart and Vessels • in press)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：矢野捷介教授)

緒 言

哺乳類において生物時計の中枢は視床下部の視交叉上核にあるが、最近末梢組織、細胞においても時計遺伝子が発現していることが明らかになった。末梢の時計遺伝子は、視交叉上核からのシグナルによりその発現が調節されているが、グルココルチコイド、カテコラミン、アンジオテンシン II などが末梢組織、細胞の時計遺伝子発現を直接制御することも分かってきた。時計遺伝子は各臓器で標的遺伝子の発現を制御し、臓器特異的な生理リズムを作り出すと考えられているが、その機能、制御機構は不明な点が多い。

高血圧モデルラットでは時計遺伝子の発現が増加しているなど、近年時計遺伝子と心血管系疾患の関連が報告されるようになり、その関係が注目されている。我々は、心臓における時計遺伝子の発現、その制御機構を検討するために、培養心筋芽細胞を用いて実験を行った。使用薬剤は、近年心不全など心血管系疾患に大きく関与していることが明らかとなった、アルドステロンを用いた。

対象と方法

ラット心筋芽細胞 H9c2 に各種薬剤を添加し、時計遺伝子 Per1、Per2、Bmal1 と時計遺伝子の標的遺伝子の一つである PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) の発現変化を経時的に検討した。添加薬剤はアルドステロン (10^{-9} ~ 10^{-6} M)、ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬のスピロラクトン (10^{-7} ~ 10^{-5} M)、positive control として 50%ウマ血清の 3 種を用いた。アルドステロンと 50%ウマ血清の添加時間は 2 時間とし、スピロラクトンを添加する場合は、アルドステロン添加の 1 時間前から添加した。薬剤を添加後、2 時間、4 時間、これ以降は 4 時間ごとに 48 時間まで細胞を回収し、total RNA を抽出後、半定量 RT-PCR にて解析を行った。

結 果

- 1). **Per1** はアルドステロン添加 2 時間後の急性期において、有意な発現増加が認められ、それはアルドステロンの濃度依存的な反応であった。またその作用はスピロノラクトンにより有意に抑制された。その後、**Per1** は 24 時間、48 時間後をピークに、12 時間後、36 時間後をトラフとする約 24 時間周期の概日リズムを示した。
- 2). **Per2** にはアルドステロン添加 2 時間後の急性期において、明らかな発現増加はみられなかった。しかしその後は **Per1** と同様の概日リズムがみられた。
- 3). **Bmal1** はアルドステロンにより **Per1**、**Per2** と逆位相の概日リズムが観察された。
- 4). **PAI-1** はアルドステロン添加により、2 時間後、4 時間後の急性期においてその発現が一過性に増加したが、その後の概日リズムは生じなかった。

考 察

ラット心筋芽細胞 H9c2 においてはアルドステロンが時計遺伝子 **Per1**、**Per2**、**Bmal1** の発現制御因子の一つであると考えられた。その作用はスピロノラクトンで抑制されることから、ミネラルコルチコイド受容体を介した作用であると推測された。**Per2** はアルドステロン添加による急性期の反応は見られなかったが、その後概日リズムが生じており、その反応は **Per1** を介した二時的なものであると推測された。**PAI-1** の発現変化は時計遺伝子のものと大きく異なっており、アルドステロンによる **PAI-1** 発現増加作用は時計遺伝子を介さない機序であることが推測された。

アルドステロンは腎臓における水・電解質調節だけではなく、心筋・血管にも直接作用し、心不全など心血管系疾患にも大きく関与していることが明らかとなっている。アルドステロンの血中濃度には日内変動があり、それが血圧、心拍数などの心パラメーター変動の一因とも考えられている。本研究の結果は、アルドステロンの心血管系への作用が一部分では時計遺伝子を介したものであることを推測させるものである。時計遺伝子の発現制御因子や心血管系との関連はいまだ十分解明されておらず、今後も更なる研究が必要と考えられる。