

実験 1 マウス虚血再灌流傷害腎モデルの作成とその心臓のミトコンドリア形態の検討

C57/BL6 マウスに両側腎動静脈を 30 分間血流遮断後に解除し腎虚血再灌流障害(腎 IR)モデルを作成した。24 時間後に IR 群では sham 群と比較して、著明な血中尿素窒素(BUN)の上昇、PAS 染色で尿細管壊死を認め、IR 群の心臓を電子顕微鏡で観察したところ sham 群に比べてミトコンドリアの断片化を有意に認めた。

実験 2 腎 IR 後の心筋組織におけるアポトーシスと心機能障害の評価

IR 群では sham 群に比較し、24 時間後の心臓組織におけるチトクローム C、活性化カスパーゼ 3 の有意な上昇を認めた。活性化カスパーゼ 3 の発現は 24 時間後よりも 72 時間後により強く認め、蛍光免疫染色でも同様の結果であった。これはアポトーシスが時間経過と共に強く起こっていることを示唆していた。心臓超音波検査では IR72 時間群で sham 群、IR24 時間群に比較し有意に FS 低下（心機能障害）を認めた。

実験 3 腎 IR 後の心筋組織におけるミトコンドリア形態制御蛋白発現の評価

全心臓組織溶解液に対するミトコンドリア形態制御蛋白の解析では、断片化に関連する蛋白である Drp1、融合に関連する蛋白である Mfn1/2, OPA1、全てにおいて sham 群、IR 群で発現に有意差はなかった。しかし腎 IR24 時間後の心臓ミトコンドリア分画において、Drp1 のみ sham 群に比較して有意に発現の上昇を認めた。

実験 4 腎 IR 後の心機能障害に対する Mdivi-1 の効果

Drp1 抑制薬である Mdivi-1 を腎 IR 手術の 1 時間前に投与したところ、血中 BUN の改善は認められなかったが、電子顕微鏡におけるミトコンドリア断片化は薬剤非投与群(IR + Vehicle 群)に比較して投与群(IR + Mdivi-1 群)で有意に改善を認めた。またミトコンドリア分画では Drp1 の発現が抑制され、それに引き続くチトクローム C、活性化カスパーゼ 3 の発現も抑制され、心機能障害の改善も認めた。

以上より本研究で腎虚血再灌流障害が遠隔臓器である心臓において、ミトコンドリア断片化とアポトーシス、その結果として心機能障害を惹起することが明らかとなり、Drp1 がこの心腎関連に重要な役割を果たしていることが示された。また Drp1 抑制薬投与(Mdivi-1)によりミトコンドリア断片化、心機能障害が改善する傾向があることが示され、急性腎傷害後の心機能障害に対する新規治療方法の開発に重要な役割を果たすと考えられた。