

平成28年1月

Nani Maharani 学位論文審査要旨

主 査 谷 口 晋 一
副主査 山 本 一 博
同 久 留 一 郎

主論文

Molecular mechanisms underlying urate-induced enhancement of Kv1.5 channel expression in HL-1 atrial myocytes

(HL-1心房筋細胞での尿酸により誘導されるKv1.5チャネル発現増強の基盤となる分子機構)

(著者：Nani Maharani、Ya Kuang Ting、Jidong Cheng、長谷川輝、倉田康孝、Peili Li、中山祐二、二宮治明、池田信人、森川久未、山本一博、蒔田直昌、山下武志、白吉安昭、久留一郎)

平成27年 Circulation Journal 79巻 2659頁～2668頁

参考論文

1. Depletion of uric acid due to SLC22A12 (URAT1) loss-of-function mutation causes endothelial dysfunction in hypouricemia

(SLC22A12 (URAT1) の機能喪失型変異による尿酸の減少は低尿酸血症における内皮機能障害を起こす)

(著者：杉原志伸、久留一郎、桑原政成、丹羽浩一郎、Nani Maharani、加藤雅彦、荻野和秀、濱田紀宏、二宮治明、東幸仁、市田公美、山本一博)

平成27年 Circulation Journal 79巻 1125頁～1132頁

学 位 論 文 要 旨

Molecular mechanisms underlying urate-induced enhancement of Kv1.5 channel expression in HL-1 atrial myocytes

(HL-1心房筋細胞での尿酸により誘導されるKv1.5チャネル発現増強の基盤となる分子機構)

高尿酸血症は心房細動を含めた臓器障害の発症やその予後の悪化と関連することが報告されている。複数の研究が高血圧や2型糖尿病ならびに虚血性心不全患者で高尿酸血症と心房細動の発症との合併が報告され、一方で他の研究では血清尿酸値が心房細動発症の予測因子であることが示されている。しかし、これらの尿酸と心房細動との関連性が指摘されているにも関わらず、その機序は不明である。

本研究は、心房筋に特異的に発現する心房筋の活動電位波形に重要な役割を演じるイオンチャネルであるKv1.5チャネルに及ぼす尿酸の効果を検討した。また、複数の機序を介して尿酸がKv1.5チャネル発現を増強するという仮説を立てて、これを検証した。

方法

尿酸7 mg/dLが培養マウス心筋細胞（HL-1細胞）における Kv1.5チャネル発現に及ぼす効果をウェスタンブロット法で（WB）で評価し、尿酸で処理したHL-1細胞の電気生理学的特性、特にIK_{Kur}電流及び活動電位に及ぼす効果を検討した。尿酸トランスポーター（UATs）の発現をRT-PCR法で検討した。適宜、UATs阻害薬（benzbromarone and K0143）、抗酸化薬（N-acetylcysteine）及びERK阻害薬（PD98059）を使用した。酸化ストレスの測定にはフローサイトメーターを使用した。

結果

尿酸処理（7 mg/dL、24時間）はHL-1細胞のKv1.5チャネル蛋白を増加させ、IK_{Kur}電流を増強し、活動電位持続時間を短縮した。HL-1細胞は尿酸取り込み型のUAT（URATv1）と尿酸排出型のUATs（ABCG2 and MRP4）を発現していた。URATv1阻害薬のbenzbromaroneは尿酸の効果を減少するが、ABCG2阻害薬のK0143は増強した。フローサイトメーターの実験から、尿酸は活性酸素を増加したが、この効果は抗酸化薬のN-acetylcysteineならびにNADPH-oxidase阻害薬（apocynin）で消失した。N-acetylcysteine及びapocyninは尿酸の

Kv1.5発現に及ぼす作用を減弱した。尿酸によるKv1.5チャネル蛋白の増加はextracellular signal-regulated kinase (ERK) のリン酸化を伴い、ERK阻害薬 (PD98059) により阻害され、N-acetylcysteineは尿酸によるERKのリン酸化を阻害した。

考察

ラット心筋でのKv1.5の過剰発現は有効不応期を短縮することが知られ、リエントリー回路の形成に重要で頻拍症を起こし得る。本研究では、尿酸の処理がHL-1細胞のKv1.5チャネル蛋白を増加し、 I_{Kur} 電流の増加と活動電位持続時間の短縮を来した。

細胞内の尿酸の蓄積に影響するUATsの阻害は尿酸のKv1.5チャネル蛋白増強作用に拮抗した。この事実は尿酸取り込み型UATsの活性化による細胞内尿酸の蓄積が細胞障害を起こすことを示す。

尿酸処理したHL-1細胞はKv1.5チャネル蛋白の増加に加えて活性酸素の増加を伴っていたが、抗酸化剤であるN-acetylcysteineにより抑制されることから、本現象は酸化ストレスの寄与が示された。NADPH-oxidase阻害薬のapocyninは尿酸処理による活性酸素のレベルを減少し、尿酸によるKv1.5チャネル蛋白の増加を阻止した。以上から、尿酸による酸化ストレスはNADPH-oxidase由来であることが確認された。

多くの研究が尿酸により発生する活性酸素の下流のシグナルとしてERK1/2経路を示している。本研究でも、尿酸処理はERKのリン酸化を増強し、これは抗酸化剤であるN-acetylcysteineにより阻害された。これらの所見は血管平滑筋細胞や脂肪細胞ならびにpancreatic β -cellsでこれまでに報告されている結果と一致した。

結論

HL-1心房筋細胞ではUATsにより取り込まれた細胞内の尿酸がKv1.5チャネル蛋白の発現亢進と機能亢進を惹起するが、この現象にはNADPH-oxidase活性化による酸化ストレスとそれに伴うERKのリン酸化が重要である。