



Title	Autophagy-mediated degradation is necessary for regression of cardiac hypertrophy during ventricular unloading
Author(s)	大藪, 丈太
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34238
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	大藪 丈太
論文題名 Title	Autophagy-mediated degradation is necessary for regression of cardiac hypertrophy during ventricular unloading. (左室逆りモデリングにおけるオートファジーの機能解析)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 心筋細胞は高血圧や大動脈弁狭窄症、容量負荷などの血行力学的負荷に対して、肥大により適応し血行動態を維持する。しかし、心肥大そのものは心疾患発症や心臓死の独立した危険因子である。降圧や大動脈弁置換術、左室補助人工心臓装着などの治療による減負荷は心筋細胞肥大の退縮、心拡大や心機能低下の改善を誘導する。この過程を逆りモデリングと称し、長期予後を改善することが知られている。心肥大の分子機構は多数報告されているが、逆りモデリングについては未だ不明である。心筋細胞サイズは蛋白質合成と分解のバランスにより決定されるため、本研究では主要な蛋白質分解機構のひとつであるオートファジーが心肥大退縮において果たす役割を解明することを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 野生型C57B/6Jマウスに対して浸透圧ミニポンプにより、アンジオテンシンIIを2週間持続投与した。アンジオテンシンII (800 ng/kg/min) の持続投与により生理食塩水投与群に比して、心肥大の指標である心重量脛骨長比は有意な増加を認めた。アンジオテンシンII負荷2週間後にポンプを除去した結果、その3日後に心重量脛骨長比はポンプ除去前に比し有意な減少を認め、心肥大退縮が誘導された。心肥大退縮過程におけるオートファジーを評価するため、ポンプ除去6時間後にLC3の蛋白質発現量をウエスタンブロット法により評価した。LC3-IIの蛋白質発現量がオートファジー活性の指標となることが知られているが、アンジオテンシンII投与群においてはLC3-IIの発現量が生理食塩水投与群に比し有意に増加した。さらに、オートファゴソームとリソソームの融合を阻害するバフィロマイシンA1 (3 μmol/kg) を組織採取の30分前に腹腔内投与し、LC3の蛋白質発現量をウエスタンブロット法にて評価した。生理食塩水投与群およびアンジオテンシンII投与群ともに、バフィロマイシンA1の投与によりDMSO投与群に比し、LC3-IIのさらなる発現増加が認められた。以上より心肥大退縮過程におけるオートファジー活性の亢進が示唆された。 心肥大退縮過程におけるオートファジー亢進の意義を検討するため、オートファジー必須蛋白質であるAtg5のfloxマウスとミオシン軽鎖IIνプロモーター依存性にCre recombinaseを発現するノックインマウスを交配することにより心筋細胞特異的Atg5欠損マウス (Atg5^{flox/flox}; Cre (+): KO) を作製し、Atg5^{flox/+}; Cre (-) マウスを対照群とした。本遺伝子改変マウスに同様のアンジオテンシンII負荷および除去実験を施行した。アンジオテンシンII投与によりKO群、対照群ともに生理食塩水投与群に比し心重量脛骨長比は有意な増加を認めたが、両群間に有意差は認めなかった。肺重量脛骨長比には各群間に有意差を認めなかった。心臓超音波法による心機能評価において、左室内径短縮率はKO群、対照群ともにアンジオテンシンII投与により生理食塩水投与群に比して有意な増加を認めたが、両群間では有意差を認めなかった。すなわちKO群、対照群ともにアンジオテンシンII負荷により心不全を伴わない同程度の心肥大が惹起された。負荷中止7日後、心重量脛骨長比について、アンジオテンシンII投与対照群と生理食塩水投与群間の有意差は認めなかったが、アンジオテンシンII投与KO群では他の3群に比し有意に高値であり、KO群では心肥大退縮が抑制された。心臓におけるプロテアソーム活性測定、ユビキチン化蛋白質発現量およびリン酸化S6蛋白質発現量、心臓における [¹⁴C] -leucineの取り込みを評価した。その結果、心肥大退縮過程においてKO群、対照群間いずれについても有意差を認めず、ユビキチン・プロテアソーム系および蛋白質合成系は心肥大退縮に関与していないことが示唆された。さらに軽負荷の横行大動脈縮窄 (transverse aortic constriction; TAC) による圧負荷手術を施行し、術後10日目に縮窄糸を除去して圧負荷を解除し、さらに7日後に心肥大を評価した。圧負荷術10日後において、心重量脛骨長比はKO群、対照群ともにTACにより対応sham群に比して有意な増加を認めたが、左室内径短縮率に有意差を認めず、KO群と対照群で心機能低下を伴わない同程度の心肥大が誘導された。圧負荷解除7日後、心重量脛骨長比について対照TAC群とsham群との間に有意差は認めず、心肥大退縮が誘導された。しかしKO-TAC群では他の3群に比し有意に高値を示し、KO群では圧負荷解除後の心肥大退縮が抑制されていた。 〔総 括(Conclusion)〕 オートファジーは減負荷による心肥大退縮に必須である。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 大藪 丈太													
論文審査担当者	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 10%; text-align: center;">(職)</td> <td style="width: 40%;"></td> <td style="width: 50%; text-align: center;">氏 名</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">主 査</td> <td style="text-align: center;">大阪大学教授</td> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;">坂田 泰史</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">副 査</td> <td style="text-align: center;">大阪大学教授</td> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;">吉森 保</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">副 査</td> <td style="text-align: center;">大阪大学教授</td> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;">松羽 泰志</td> </tr> </table>	(職)		氏 名	主 査	大阪大学教授	坂田 泰史	副 査	大阪大学教授	吉森 保	副 査	大阪大学教授	松羽 泰志
(職)		氏 名											
主 査	大阪大学教授	坂田 泰史											
副 査	大阪大学教授	吉森 保											
副 査	大阪大学教授	松羽 泰志											

論文審査の結果の要旨

心筋細胞は様々な血行力学的負荷に対し肥大によりストレス適応するが、心肥大自体は心疾患発症や心臓死の独立した危険因子であることが知られている。治療による減負荷は心筋細胞肥大の退縮、心拡大や心機能低下の改善を誘導する。この過程は逆リモデリングと称され、長期予後を改善することが知られているものの、その分子機構については未だ不明である。本研究では、まず野生型マウスにおけるアンジオテンシンII誘導性心肥大の退縮過程において、主要な蛋白質分解機構の一つであるオートファジーが誘導されていることを示した。次に、オートファジー必須因子ATG5の心筋細胞特異的欠損マウスでは減負荷後の心肥大退縮が抑制されていることを見いだした。その過程において、蛋白質合成系や他の主要蛋白質分解系であるユビキチン・プロテアソーム系は対照群と比し変化しておらず、心肥大退縮にはオートファジーが必須であることを明らかにした。オートファジーの誘導が心肥大退縮を介して、心疾患発症の抑制や予後の改善につながる可能性を示唆する研究であり、学位の授与に値すると考えられる。

* A4で本紙1部、コピー92部を提出してください。