OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Activation of JAK/STAT pathway transduces cytoprotective signal in rat acute myocardial infarction
Author(s)	根来, 伸治
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43232
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

【26】

氏名	根来伸治（ねごろしんじ）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第16424号
学位授与年月日	平成13年5月14日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Activation of JAK/STAT pathway transduces cytoprotective signal in rat acute myocardial infarction （ラット急性心筋梗塞においてJAK/STAT系の活性化が細胞保護作用を有する）
論文審査委員	（主査） 教授 松澤 佑次 （副査） 教授 多田 道彦　教授 荻原 俊男

論文内容の要旨

【目的】

gp130は、炎症性サイトカインであるインターロイキン-6（IL-6）をはじめとするIL-6サイトカインファミリー共通の受容体で、ほとんどすべての臓器に発現している。心臓においてもgp130は高い発現レベルを示し、gp130を介する情報伝達系の活性化が、in vitroにおいて心筋細胞肥大および保護作用を有すること、またin vivoにおいてgp130持続活性化マウスが心肥大を、gp130欠損マウスが胎生期心筋の菲薄化を示すことが報告されている。以上の結果は、gp130の活性化が心筋の分化や肥大に関与している可能性を示唆している。また、gp130を介する細胞内情報伝達系にはJanus kinase/signal transducer and activator of transcription（JAK/STAT）、mitogen-activated protein kinase（MAPK）、phosphatidylinositol-3 kinase（PI3K）の3つの系が存在することが報告され、特にJAK/STAT系が心筋肥大ならびに保護作用、抗apoptosis作用を有することが明らかにされている。しかしながら、実際どのような心筋病態においてJAK/STAT系が活性化されているか、またその役割に関する報告は未だない。近年、急性心筋梗塞においてnecrosisのみならずapoptosisが誘導され、心筋傷害に重要な影響を及ぼしていることが報告されている。

本研究では、急性心筋梗塞においてJAK/STAT系が活性化されるのかを明らかにし、またその意義を検討することを目的とした。

【方法ならびに結果】

1）方法

①ラット心筋梗塞モデルの作製

雄性ウイスターラット（体重約100g）をエーテル麻酔後挿管し、左肋間開胸、直視下に左前下行枝を結紮しその後閉胸し抜管した。心筋梗塞心を摘出する前に右室より1％エバンスブルーを注入し、その後短軸面にて3分割し左室スライスを作成した。スライスはエバンスブルーで染色される非梗塞領域と染色されない梗塞領域を含む虚血領域に分類される。適時、各領域においてサンプリングし以下の実験に使用した。さらに、心筋梗塞ラットをsham手術群（S群）、心筋梗塞群（MI群）、梗塞作成30分前にAG490（JAK 2 inhibitor）を1mg/kg、4時間毎に静注した心筋梗塞群（AG-MI群）の3群に分類し比較検討した。

②ウエスタンブロッティング

各領域における STAT3 のリン酸化の程度並びに Bcl-xL、Bcl-2、Bax、Bad 等 apoptosis 関連蛋白の発現を検討した。

③ caspase3 活性の測定および TUNEL assay

apoptosis の実行に重要な caspase3 活性の測定と、apoptosis の指標として TUNEL assay を施行した。

2）結果

①梗塞心における STAT3 の活性化

S 群では STAT3 のリン酸化は認めず、また虚血領域では軽度の STAT3 のリン酸化を認めた。STAT 3 は非梗塞領域の中でも虚血領域に隣接する領域（border area）において、梗塞後 1 時間から 6 時間まで続く強いリン酸化を認めた。border area における STAT3 活性化の意義を検討するため、この系を抑制する薬剤 AG490（JAK2 inhibitor）を使用した。

②AG490による STAT3 リン酸化の抑制

MI 群で認めた border area における STAT3 のリン酸化は、AG-MI 群で有意に抑制された。一方、ERK、p38、Akt のリン酸化には 2 群間に差は認めなかった。

③ caspase3 活性

border area における caspase3 活性を経時的に測定した。MI 群での caspase3 活性は梗塞前に比し梗塞 4 時間後に1.2倍、18時間後に1.3倍と有意な変化を認めなかったが、AG-MI 群では梗塞18時間後に 3 倍と有意な上昇を認めた。

④ apoptosis 関連蛋白の発現

border area における apoptosis 関連蛋白の発現を、ウエスタンブロッティングにて経時的に検討した。AG-MI 群においてのみ梗塞12時間後に Bax の有意な発現増加を認めた。一方、Bcl-xL、Bcl- 2 、Bad の発現には MI 群と AG-MI 群で有意な差は認めなかった。

⑤ TUNEL assay

border area における心筋細胞の apoptosis を TUNEL 染色により 2 群間で検討した。AG-MI 群において梗塞24時間後において TUNEL-陽性細胞の有意な増加を認めた。

【総括】

急性心筋梗塞において、JAK/STAT 系の活性化が認められた。特に、虚血領域周辺の非梗塞領域に強い STAT3 のリン酸化が観察された。JAK2 inhibitor により STAT3 のリン酸化を抑制することにより、caspase3 活性の上昇、Bax の発現増加、さらには TUNEL assay による apoptosis 細胞の増加が認められたことから、この系は梗塞心において細胞保護作用を有するものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

gp130を介する情報伝達系は、in vitro では心筋肥大作用と細胞保護作用を示し、in vivo では心臓の発生、成長さらに種々の外的ストレスに対する適応において重要であると報告されている。特にその下流の STAT3 が重要であり、STAT3 の心筋特異的過剰マウスが心肥大をきたすこと、また、このマウスが心毒性を有する薬剤ドキソルビシンに耐性があることが明らかにされている。しかし、実際どのような病態で STAT3 が活性化されるかは未だ報告はない。

本研究では急性心筋梗塞において STAT3 が活性化され、この STAT3 の活性化が細胞保護作用、特に抗 apoptosis 作用を有することを初めて明らかにした。このことから STAT3 が心筋梗塞後の心筋リモデリングの抑制に関与していることが示唆され、今後、STAT3 を活性化することが心筋梗塞後の心筋リモデリングの予防にもつながる治療になりうるものと考えられる。以上より、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。