The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Targeted deletion of apoptosis signal-regulating kinase 1 attenuates left ventricular remodeling
Author(s)	山口, 修
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45283
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

【20】

氏　　名	山口　修（やまぐち　おさむ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　18448　号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Targeted deletion of apoptosis signal-regulating kinase 1 attenuates left ventricular remodeling （左室リモデリングにおけるASK1の機能解析）
論文審査委員	（主査） 教授　堀　正二 （副査） 教授　辻本　賀英　　教授　荻原　俊男

論文内容の要旨

【目的】

心筋梗塞後や圧負荷状態などのストレスに対し、心臓は心肥大や左室径拡大により適応し心拍出量を保つ。しかしストレスが過度であったり長期に持続すると適応破綻を生じ、心収縮力は低下、左室はさらに拡大し心不全状態に陥る。この一連の形態変化はリモデリングと呼ばれ、心不全発症の原因として極めて重要である。心不全発症機構の検討については生理学的側面からの研究が中心であったが、近年分子生物学的アプローチを用いた研究が進みつつある。その中で心不全発症の一因にアポトーシスによる心筋細胞死が関与しているとの報告がある。しかしアポトーシスの関与を含め、リモデリングの分子生物学的機序は未だ明らかでない。Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1（ASK1）はMitogen-Activated Protein Kinase（MAPK）ファミリーの上流に位置し、種々の細胞でストレス誘導性アポトーシスに関与すると報告されているが、その生体内での機能は不明であった。本研究では心筋細胞死から左室リモデリング、心不全の発症におけるASK1の関与を検討した。

【方法ならびに成績】

ASK1を特異的に欠失させたノックアウトマウス（ASK1-/-マウス）と野生型マウスの心機能を観血的血行動態検査と心超音波検査を用いて解析した。両者の間に心重量、心形態、心機能に有意差を認めなかった。ASK1は生理学的条件下では心形成、心機能維持に必須の機能を有していないか、他のシグナリング分子によって代償されていると考えられた。次に左室リモデリングから心不全に至る動物モデルとして、心筋梗塞モデルならびに大動脈縮窄圧負荷モデルを用いた検討を行った。麻酔、人工呼吸管理下にて心筋梗塞は左冠動脈の結紮術により、圧負荷は大動脈弓部の縮窄術により作成した。心筋梗塞作成時の虚血危険領域と圧負荷時の縮窄部前後での圧較差は同等であり、両群における負荷量は同等と考えられた。圧負荷1週間後の心筋肥大反応は両群において差を認めなかった。4週間後に超音波検査を行い左室リモデリングを評価した。心筋梗塞モデル、圧負荷モデルのいずれでもASK1-/-マウスにおいて左室径拡大ならびに左室径短縮率低下は有意に抑制されていた。また肺重量増加もASK1-/-マウスでは軽減していた。以上によりASK1-/-マウスでは左室リモデリング進展と心不全の進行が抑制されていることが判明した。

次にアポトーシスの関与をTUNEL法にて検討した。心筋梗塞作成、圧負荷作成術後1週、4週のいずれにおいてもASK1-/-マウスでは心筋細胞のアポトーシスが有意に抑制されていた。ASK1を介する心筋細胞アポトーシスが左室リモデリングにおいて重要な役割を示していることが示唆された。

続いてASK1の心筋細胞死における関与を検討した。Wistarラット新生仔心筋細胞を培養しASK1の恒常活性体アデノウイルスを感染させることによりアポトーシスが誘導された。またASK1-/-マウス心より新生仔心筋細胞を単離培養し、H_2O_2 添加によるアポトーシスを誘導したところ、野生型マウス心筋細胞に比し有意に H_2O_2 に対する耐性を有していた。以上よりASK1が心筋細胞のアポトーシスに関与していることが示された。

ASK1下流のシグナル伝達について検討を行った。ASK1は心筋梗塞モデル、圧負荷モデルのいずれにおいても野生型マウスにおいて活性が上昇しており、下流のMAPKであるp38、JNKも活性化されていた。しかしASK1-/-マウスにおいてはp38の活性化は認めたものの、JNKのリン酸化が抑制されていた。ASK1からJNK、アポトーシスに至る経路がリモデリングに関与している可能性が示唆された。

【総括】

今回ASK1-/-マウスを解析することでASK1が左室リモデリングに関与している事を見出した。心筋梗塞モデルと大動脈縮窄モデルを用いた検討ではいずれにおいてもASK1-/-マウスでは、野生型に比し左室拡大と左室短縮率低下に象徴される左室リモデリングが顕著に抑制された。これは心臓におけるアポトーシスが著明に抑制されたことが原因と考えられた。ASK1の恒常活性体はラット新生仔心筋細胞においてアポトーシスを誘導し、またASK1ノックアウトマウスの新生仔心筋細胞は H_2O_2 による細胞死に耐性を有した。以上によりASK1はストレス応答に際して心筋細胞死を誘導し左室リモデリングを進行させることが明らかとなった。従って今後ASK1は心不全治療の新たなターゲットとなる可能性があると考えられる。

論文審査の結果の要旨

左室リモデリングは心不全の発症と進展に関与する重要な心形態変化過程であるが、その分子生物学的メカニズムや関与するkey moleculeは明らかになっていない。

本研究はASK1の左室リモデリングへの関与を検討したものである。発表者はASK1ノックアウトマウスと野生型マウスにおいて圧負荷モデルと心筋梗塞モデルを作成し、左室リモデリング過程を検討した。その結果ASK1は左室リモデリングと心不全の発症に極めて重要な因子であることを示した。本研究はASK1の *in vivo* での機能を初めて報告したものである。またストレス応答時の心筋細胞のアポトーシス、ASK1活性、その下流の酵素であるp38、JNKの活性化を詳細に検討することで、ASK1がJNKを介して心筋細胞のアポトーシスを惹起し、リモデリングならびに心不全を引き起こすというメカニズムを明らかにした。更にASK1活性型アデノウイルスを用いた *in vitro* の検討でもASK1が心筋細胞死に関与することを示した。今後の新たな心不全治療開発につながる可能性のある有用な発表と思われる。

以上より、本研究は学位の授与に値すると考えられる。