

|              |                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Pressure Overload Induces Cardiac Dysfunction and Dilation in Signal Transducer and Activator of Transcription 6-Deficient Mice                                                                                                                                                   |
| Author(s)    | 彦惣, 俊吾                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Citation     | 大阪大学, 2005, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/45410">https://hdl.handle.net/11094/45410</a>                                                                                                                                                                                               |
| 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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。 |

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

|            |                                                                                                                                                                            |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏名         | 彦 惣 俊 吾                                                                                                                                                                    |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                  |
| 学位記番号      | 第 1 9 2 5 1 号                                                                                                                                                              |
| 学位授与年月日    | 平成 17 年 3 月 25 日                                                                                                                                                           |
| 学位授与の要件    | 学位規則第 4 条第 1 項該当<br>医学系研究科情報伝達医学専攻                                                                                                                                         |
| 学位論文名      | Pressure Overload Induces Cardiac Dysfunction and Dilatation in Signal Transducer and Activator of Transcription 6-Deficient Mice.<br>(STAT6 欠損マウスでは圧負荷により心機能低下と心拡大が惹起される) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 堀 正二<br><br>(副査)<br>教授 下村伊一郎 教授 仲野 徹                                                                                                                            |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

心臓は圧負荷などのストレスに対して初期には肥大することにより適応するが、ストレスが長期間持続するとその適応が破綻して心収縮力の低下や心拡大をきたし心不全が発症する。この適応から破綻への移行には心筋細胞死が重要な役割を果たしていると考えられている。すなわち心不全の発症を制御するためには心筋細胞死を未然に防ぐことが重要であると考えられるが、その分子生物学的メカニズムには不明な点が多い。

Signal transducer and activator of transcription 6 (STAT6) は interleukin-4 により活性化され、血球系ではヘルパーT細胞の分化に重要な役割を果たしていることが知られている。近年、STAT6 は高血圧ラットの心筋やヒトの拡張型心筋症の心筋で活性化されていることが報告されており、心肥大、心不全の発症に何らかの役割を果たしていることが示唆されるが詳細は不明である。本研究では STAT6 ノックアウトマウス (以下 STAT6<sup>-/-</sup>) を用いて心臓における STAT6 の in vivo での役割を明らかにすることを目的とした。

#### 【方法ならびに成績】

STAT6<sup>-/-</sup>の心臓の構造を肉眼的、組織学的に評価し、また機能を圧トランスデューサーを用いた血行力学的あるいは心臓超音波法により評価したところ、構造、機能ともに野生型マウス (wild type : 以下 WT) と比較し有意な変化を認めなかった。従って STAT6 は生理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。

次に圧負荷に対する STAT6 の役割を検討するために、STAT6<sup>-/-</sup>および WT を用いて大動脈縮窄 (Transverse Aortic Constriction : 以下 TAC) による圧負荷モデルを作成しその表現型を検討した。TAC 後に WT では STAT6 のリン酸化および核移行が認められ、圧負荷により STAT6 が活性化されることが示された。TAC 1 週間後の心臓超音波検査では、WT と比較し STAT6<sup>-/-</sup>において左室内腔径の有意な拡大および左室内腔短縮率の有意な低下を認めた。また肺うっ血の指標である肺重量・体重比は WT と比較し STAT6<sup>-/-</sup>において有意に増加しており、STAT6<sup>-/-</sup>は圧負荷によりうっ血性心不全を発症していることが示された。組織学的検討では STAT6<sup>-/-</sup>において有意な線維化の増加を認めた。

また TAC 2 日後および 1 週間後の心臓におけるアポトーシスの程度を TUNEL 染色にて検討したところ、いずれの時点においても STAT6<sup>-/-</sup>では WT と比較し TUNEL 陽性で示されるアポトーシスの細胞数が有意に増加しており、このアポトーシスの増加が STAT6<sup>-/-</sup>における心不全の発症に関与していることが示唆された。以前より STAT6<sup>-/-</sup>では免疫刺激に対する tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) の発現が増加していること、また TNF- $\alpha$  は心筋細胞のアポトーシスを誘導することが報告されている。そこで心臓における圧負荷後の TNF- $\alpha$  mRNA の発現を real-time RT-PCR 法にて検討した。その結果、WT では一過性の TNF- $\alpha$  mRNA の増加を認めたのみであったが STAT6<sup>-/-</sup>においてはその増加は持続的であった。また STAT6<sup>-/-</sup>と TNF receptor1 (TNFR1) ノックアウトマウスを交配させて作成した STAT6/TNFR1 ダブルノックアウトマウスでは、STAT6<sup>-/-</sup>で認められた圧負荷による心拡大、心機能低下が認められなかった。すなわち STAT6<sup>-/-</sup>における圧負荷後の心不全の原因は心筋における持続的な TNF- $\alpha$  の増加が原因であると考えられた。近年、TNF- $\alpha$  の分解に主要な役割を果たしている tristetraprolin (以下 TTP) が STAT6 依存性に TNF- $\alpha$  の発現を減少させることが報告されている。そこで本研究における TTP の発現を検討したところ、WT の心臓では圧負荷により TTP の有意な増加を認めたが STAT6<sup>-/-</sup>ではその増加は認められなかった。またマウス新生仔心筋細胞を分離し TTP プロモーター依存性ルシフェラーゼ発現ベクターを用いてレポーターアッセイをおこなったところ、TTP プロモーターはエンドセリン-1 により STAT6 依存性に活性化された。

#### 【総括】

本研究では STAT6<sup>-/-</sup>を用いて心臓における STAT6 の役割について検討を行なった。心臓において STAT6 は圧負荷により活性化され TTP プロモーターに作用して TTP の発現を誘導し TNF- $\alpha$  の発現を調節していることが示唆された。TNF- $\alpha$  は心筋細胞のアポトーシス、間質の線維化を介して心不全の発症に重要な役割を果たすことが知られている。STAT6 は TNF- $\alpha$  の発現を調節することにより圧負荷によるアポトーシスを抑制し保護的に作用していることが示唆された。今後、この STAT6-TTP シグナリングによる TNF- $\alpha$  発現調節機構を心不全治療に応用できる可能性があると考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

STAT6 はサイトカインシグナルに関与する分子として同定された。近年になり、心不全の病態へ関与している可能性が報告されたが詳細は不明であった。

本研究は心臓における STAT6 の役割を検討したものである。発表者は STAT6 ノックアウトマウスと野生型マウスを用いて圧負荷モデルを作成しその表現形を検討した。その結果 STAT6 が圧負荷に対して保護的に作用しており心不全の発症抑制に極めて重要な役割を果たしていることを示した。本研究は STAT6 の *in vivo* の心臓における役割を初めて報告したものである。また圧負荷による心筋細胞のアポトーシスの程度および心筋における TNF- $\alpha$  発現量を詳細に検討することにより、圧負荷後の心臓において STAT6 が TNF- $\alpha$  の過剰な発現の抑制を介して心筋細胞のアポトーシスを抑制していることを示した。さらに STAT6 が TNF- $\alpha$  の発現を調節するメカニズムとして RNA 結合蛋白である tristetraprolin が関与している可能性を示し、圧負荷後の心臓において STAT6-tristetraprolin という経路が TNF- $\alpha$  の発現を負に制御するというメカニズムが存在している可能性を示唆した。これらの知見は今後の新たな心不全治療の開発に有用であると考えられ、本研究は学位の授与に値すると思われる。