



Title	Prolonged Endoplasmic Reticulum Stress in Hypertrophic and Failing Heart after Aortic Constriction Possible contribution Of Endoplasmic Reticulum Stress to Cardiac Myocyte Apoptosis
Author(s)	岡田, 健一郎
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46340
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

氏 名 おか だ けん いち ろう
岡 田 健 一 郎

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 20060 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 18 年 3 月 24 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 Prolonged Endoplasmic Reticulum Stress in Hypertrophic and Failing Heart After Aortic Constriction Possible Contribution of Endoplasmic Reticulum Stress to Cardiac Myocyte Apoptosis
(肥大心及び不全心における小胞体ストレスの役割—心筋細胞のアポトーシスへの寄与—)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 堀 正二

(副査)
教 授 武田 雅俊 教 授 荻原 俊男

論 文 内 容 の 要 旨

【背景と目的】

オルガネラの一つである小胞体は、蛋白質の生合成及び品質管理の場のみならず、アポトーシスを発信する場としても知られている。虚血・酸化ストレス・蛋白合成の亢進等の様々な刺激は、小胞体における正常な蛋白質の折り畳みを障害し、構造異常の蛋白質が蓄積する（小胞体ストレス）。小胞体ストレスが過度であったり、遷延化すると小胞体発信のアポトーシスシグナルが誘導される。最近、小胞体ストレスは、糖尿病や神経変性疾患の病態に関与していることが知られており、様々な疾患形成に重要な役割を果たしていると考えられる。

不全心筋の心筋細胞では、小胞体が形態的に発達していることが報告されている。さらに、分泌蛋白質の過剰な合成や酸化ストレスが生じているため、小胞体ストレスが生じていると予想される。しかしながら、これまで心不全の進展における小胞体ストレスの役割についての検討は皆無であった。そこで、本研究では心不全の進展における小胞体ストレスの関与についての検討を行った。

【方法ならびに成績】

1) マウスの肥大心・不全心モデルの心臓における小胞体ストレスの誘導

肥大心・不全心における小胞体ストレスの役割を検討するため、マウスの大動脈を縮窄し（transverse aortic constriction: TAC）、圧負荷を加えることにより、心肥大から心不全への進展モデルを作成した。心・肺重量や心エコーの所見等の解析から、TAC後1週間のマウスを肥大心モデル（肥大型）、TAC後4週間のマウスを不全心モデル（不全期）として、小胞体ストレスの役割についての検討を行った。肥大型、不全期において小胞体ストレスの指標である小胞体シャペロン（GRP78等）の発現がRNAレベル、蛋白質レベルで増加していることを確認した。さらに、不全期においてアポトーシスの指標であるcaspase-3の活性化及びTUNEL陽性細胞の有意な増加を認めた。同時に、三つの小胞体ストレス介するアポトーシスシグナルcaspase-12、JNK、CHOPのうち不全期においてCHOPのみ発現増加を認めた。

続いて、マウスの TAC モデルに対し心不全治療の代表的な薬剤であるアンジオテンシンⅡタイプ1 受容体拮抗薬 (ARB) を投与したところ、心重量・肺重量の増加の抑制とともに、小胞体ストレスの誘導が抑制された。さらには、同薬剤の投与により caspase-3 の活性化、TUNEL 陽性細胞の有意な増加及び CHOP の発現増加が抑制された。

以上の結果から、マウスの肥大型で認めた小胞体ストレスの誘導は、不全期においても遷延していることが確認された。さらに、不全期では小胞体発信アポトーシスシグナルが活性化していた。重要なことに、肥大型、不全期で認めた小胞体ストレスの誘導のメカニズムには、レニン・アンジオテンシン系が関与している可能性が考えられた。

2) ラット培養心筋細胞における小胞体ストレスの誘導

次に、小胞体ストレス及びアポトーシスにおけるアンジオテンシンⅡの効果について評価するために、培養心筋細胞を用いて検討を行った。成熟ラットの心筋細胞にアンジオテンシンⅡを投与すると、蛋白合成の増加、小胞体ストレスの誘導、CHOP の発現増加及び心筋細胞のアポトーシスを認めた。同薬剤の効果は、ARB の投与により抑制された。次に、心筋細胞に小胞体ストレスを惹起した際に、アポトーシスが誘導される可能性について、培養心筋細胞を用いて検討を行った。小胞体ストレスを誘導性の薬剤であるツニカマイシン及びタブシガルギンを用いた際の新生仔ラットの心筋細胞のアポトーシスの誘導についてみたところ、TUNEL 陽性細胞の有意な増加と、DNA の断片化及び caspase-3 の活性化を認めた。従って、心筋細胞に小胞体ストレスを誘導すると、アポトーシスが惹起されることが確認された。

3) ヒト不全心における小胞体ストレスの誘導

最後に、我々はヒト不全心において小胞体ストレスの誘導についての検討を行った。まず、ヒト心臓組織の免疫染色では、健常心と比較して不全心の心筋細胞では小胞体シャペロンの濃染像を認めた。続いて、mRNA レベルの発現の検討では、健常心と比し心不全患者の心臓において、肥大型・不全心の指標である ANP や BNP の著明な発現増加とともに、小胞体シャペロンの著明な発現増加を認めた。以上より、ヒト不全心においても、小胞体ストレスが誘導されていることが確認された。

【総括】

本研究の検討結果を以下にまとめると、

1. マウスの肥大型・不全心モデルにおいて、遷延した小胞体ストレスの誘導が認められた。不全心モデルでは、心筋細胞のアポトーシスが観察されると同時に、小胞体ストレス特異的なシグナルである CHOP の発現増加を認めた。
2. 小胞体ストレス誘導性の薬剤の投与により、ラットの培養心筋細胞ではアポトーシスが観察された。
3. マウスの肥大型・不全心モデルや培養心筋細胞において認めた小胞体ストレス、CHOP の発現及びアポトーシスの誘導が ARB で抑制されたことから、不全心における小胞体ストレスの誘導のメカニズムとしては、アンジオテンシンⅡが関与している可能性が考えられた。
4. ヒト不全心の心筋細胞においても、小胞体ストレスが誘導されていた。

以上の結果より、肥大型から不全心への進展の際に認められる心筋細胞のアポトーシスには、小胞体ストレスが関与している可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

近年、レニン・アンジオテンシン系阻害剤やベータ遮断薬の導入により、慢性心不全患者の予後改善が認められるようになった。しかし、依然その死亡率は高いため心不全の新たな治療法ならびに心不全への進展抑制法の開発は重要な課題であると考えられる。肥大型から不全心への進展には、心筋細胞のアポトーシスが関与していることが報告されている。しかしながら、アポトーシスを引き起こすメカニズムの詳細については未だ明らかではない。本研究において申請者は、肥大型から不全心への進展の際に認められる心筋細胞のアポトーシスに対する小胞体ストレス発信アポトーシスシグナルの関与についての検討を行い、以下の知見を得た。1. ヒト不全心において小胞体ストレス及び

小胞体ストレス発信アポトーシスシグナルの CHOP が誘導されていた。2. マウスの圧負荷モデルでは、小胞体ストレスが心不全の進展に先行して誘導されていた。さらに、マウス不全心では CHOP の発現増加と同時に心筋細胞のアポトーシスを認めた。3. ラット培養心筋細胞に、小胞体ストレスを誘導すると CHOP を介する心筋細胞のアポトーシスが観察された。4. CHOP ノックアウトマウスでは、圧負荷による心不全への進展が抑制された。以上の結果から、肥大心から不全心への進展には、小胞体ストレス発信アポトーシスシグナルである CHOP が重要な役割を果たすことが示された。この研究成果により、小胞体ストレスの軽減や CHOP を標的とした薬剤の開発が、心不全の新たな治療法の発展に貢献すると考えられる。本研究は、博士（医学）の学位授与に値する。