

Title	Apoptosis signal-regulating kinase 1(ASK1)/p38 signaling pathway negatively regulates physiological hypertrophy
Author(s)	谷池, 正行
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/48885
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	谷 池 正 行
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 2 1 7 9 6 号
学位授与年月日	平成 20 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	Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)/p38 signaling pathway negatively regulates physiological hypertrophy (ASK1/p38 シグナル伝達経路は生理的心肥大を抑制的に制御する)
論文審査委員	(主査) 教授 堀 正二 (副査) 教授 澤 芳樹 教授 米田 悦啓

論文内容の要旨

〔目的〕

心肥大は病的な心肥大と生理的な心肥大に分類される。前者は心筋梗塞、高血圧、弁膜症などによってもたらされ、心不全発症・死亡に繋がる。一方、後者は水泳やランニングなどの運動により生じ、その予後は良好である。

Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) は、MAP kinase kinase kinase であり、下流に存在する JNK と p38 を介してアポトーシスを制御する。ASK1 は病的な心筋リモデリングにおいて重要な役割を果たしている。本研究では ASK1 シグナリング経路の生理的な心肥大に対する役割を検討した。

〔方法ならびに成績〕

8 週齢の雄性のマウスに対し運動負荷として 1 回 90 分間、毎日 2 回、4 週間、水泳トレーニングを施行した群を swim 群とし、施行せずに飼育した群を non-swim 群として比較検討した。

野生型マウス (WT) において運動負荷により左室心重量が有意に増加した。ASK1 欠損マウス (ASK1^{-/-}) では左室心重量のさらなる増加が認められた。肥大心において間質の線維化や ANF、BNP の mRNA 発現は認めなかった。p38 のリン酸化状態について抗リン酸化 p38 抗体を用いた Western blot 法により評価したところ、WT swim 群においてのみ運動負荷開始 30 分後に p38 のリン酸化は上昇した。運動負荷開始 30 分後における JNK のリン酸化の程度はいずれの群においても有意な差を認めなかった。そこで p38 の生理的な肥大における役割を検討するため、心筋特異的な p38 α 欠損マウス (p38 α KO) に運動負荷を加えたところ、対照 swim 群に比し左室心重量の増大を示した。

生理的な心肥大において重要な役割を持つ Akt のリン酸化状態について抗リン酸化 Akt 抗体を用いた Western blot 法により評価した。WT swim 群では運動負荷開始 30 分後に WT non-swim 群に比し Akt リン酸化の上昇を認めた。ASK1^{-/-} swim 群や p38KO swim 群は control swim 群に比し Akt リン酸化の亢進を示した。

単離ラット新生心筋細胞 (NRVM) において生理的な心肥大刺激である insulin-like growth factor-1 (IGF-1) の Akt リン酸化に対する効果を評価した。Akt リン酸化は IGF-1 投与 10 分後にピークに達し、その後減少した。一方、p38 の阻害剤である SB203580 存在下では、IGF-1 による Akt リン酸化は時間依存性に増加し、投与 60 分後におい

て SB203580 非投与群に比し有意に高値を示した。

次に Akt シグナル伝達経路の上流に存在する phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) の NRVM における活性を *in vitro* lipid kinase assay により測定した。IGF-1 投与下での PI3K の活性は対照群に比し有意に上昇したが、SB203580 存在下では PI3K の活性は増強されず、むしろ活性は抑制された。

Akt をリン酸化する phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1) の NRVM における活性を *in vitro* immune complex kinase activity assay により測定した。IGF-1 は PDK1 活性を上昇させた。SB203580 による PDK1 活性に対する効果は認めなかった。一方 Akt を脱リン酸化する protein phosphatase 2A (PP2A) 活性を *in vitro* phosphatase activity assay により測定したところ、その活性は IGF-1 投与 10 分後に上昇し、その後遷延した。SB203580 存在下では IGF-1 刺激 60 分後において PP2A 活性は SB203580 非投与群に比し、有意に低値を示した。

[総括]

本研究により ASK1、p38 は運動負荷により惹起される生理的心肥大を負に制御していることが明らかとなった。ASK1/p38 は Akt 脱リン酸化酵素である PP2A の活性化を介して Akt 活性を調節している。病的リモデリングと生理的心肥大に関わるシグナリング伝達経路が関連していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

病的心臓リモデリングに関与する Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)-p38 シグナリング経路の生理的心肥大における役割は不明である。そこでマウスに運動負荷として水泳トレーニングを 4 週間施行した。ASK1 欠損マウス (ASK1^{-/-}) は野生型マウス (WT) に比し心重量が増大した。両群共、胎児性遺伝子発現や線維化は認めなかった。生理的心肥大に関わる Akt のリン酸化は WT に比し ASK1^{-/-} において増大し、p38 のリン酸化は選択的に抑制された。心筋特異的 p38 α 欠損マウスにおいても運動負荷による生理的心肥大は促進した。生理的心肥大をもたらす IGF1 刺激下ラット新生児心筋細胞では p38 阻害により Akt リン酸化の遷延、Akt を脱リン酸化する PP2A 活性の抑制を認めた。ASK1-p38 経路の生理的心肥大抑制メカニズムを明らかにしたことは学位論文に値する。