



Title	心筋傷害におけるユビキチン・プロテアソーム系活性化の意義
Author(s)	山本, 泰弘
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49658
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 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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	山本 泰弘
博士の専攻分野の名称	博士(臨床薬学)
学位記番号	第 22581 号
学位授与年月日	平成21年1月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学位論文名	心筋傷害におけるユビキチン・プロテアソーム系活性化の意義
論文審査委員	(主査) 教授 東 純一 (副査) 教授 馬場 明道 教授 松田 敏夫 教授 八木 清仁

論文内容の要旨

現代日本では、世代構成の高齢化や食生活の欧米化が進み、虚血性心疾患、心不全、高血圧などの循環器疾患が急増している。なかでも様々な循環器疾患の最終的な病態である心不全は、心臓のポンプとしての機能が低下し、末梢組織の酸素需要に見合う血液を駆出できなくなった状態であり、その生命予後は5年生存率が50%以下と極めて悪い病態である。心不全に対する根本的な治療法を確立することは、今後の循環器薬理学の重要な課題である。

心筋細胞は生後まもなくその分裂能力を失うため、病態時における心臓組織の恒常性を保つためには、心筋傷害機構とそれに対する保護機構の詳細なメカニズムを把握した治療戦略が必要である。心臓に虚血や高血圧負荷などのストレスが加わると、心筋細胞は肥大し、間質の線維化が進行する心臓リモデリングが惹起されるが、近年の研究により、これまでとは異なった機構を介した細胞傷害メカニズムが提唱されており、心不全形成機構解明の一助となる可能性が示唆されている。近年、筋萎縮における筋構成タンパク質は、ユビキチン・プロテアソーム系(UPS)の活性化を介して分解されるという報告がなされた。UPSは細胞内におけるタンパク質分解の代表的なシステムであり、UPSの厳密なタンパク質分解制御を担っているのが、ユビキチンリガーゼである。近年、筋肉細胞を特異的に認識するユビキチンリガーゼである、atrogen-1とMuRF-1が同定され、骨格筋の萎縮時に高発現することが報告された。また、心筋においても、atrogen-1は細胞サイズの制御に関わっているという報告がなされ、循環器疾患におけるUPSを介したメカニズムが重要であることが示唆された。心筋細胞は、心筋梗塞などにより損傷を受けると、生き残った細胞の代償性機構による肥大や線維化が起こる。このような心筋細胞のリモデリング形成にも、UPSを介したタンパク質分解のシステムが関与すると考えられるが、過剰な応答は、分裂能力を持たない心筋細胞の生存に悪影響を及ぼす可能性がある。よって、UPSによる細胞内のタンパク質分解を制御することは、心筋細胞の恒常性維持に重要であると考えられる。以上のことから、心筋傷害時におけるリモデリング形成メカニズムを、タンパク質分解の観点から理解することは必須であり、その制御機構を解明するこ

とは新たな心不全治療を開拓する上で有用であると提言する。本研究では、心不全病態形成におけるUPSの意義に焦点を当てた研究成果を報告する。

本研究では、心筋傷害におけるUPSの病態形成への寄与を探るために、心筋傷害モデルとしてドキシソルピシン心筋症モデルを用いた検討を行った。ドキシソルピシン(DOX)は抗癌剤として開発されたが、副作用として心毒性があり、臨床においては、長期にわたる投与による蓄積毒性により、心機能障害を発症し、心不全に至ることが問題となっている。心筋傷害の発生機序として、 α -MHCやBNPなどの心筋特異的遺伝子の発現阻害、活性酸素種の産生亢進、アポトーシス促進などが報告されているが、近年、DOXが細胞内のタンパク質分解システムであるUPSを活性化することが報告された。本研究では、UPSの活性化がDOX誘発心筋傷害に深く関わっているのではないかと仮説を立て、DOXの心毒性メカニズムとUPSの関わりについて検討した。

まず、DOXの心臓に対する形態学的影響について検討した。臨床的にはDOXは、長期に渡る投与による蓄積毒性によって、心機能障害を発症し、心不全に至ることが知られている。*in vivo*、*in vitro*における検討の結果、DOXは心筋細胞の萎縮を惹き起こすことが明らかとなった。また、その萎縮作用はプロテアソームを介するものであることが示された。

次にDOXの心筋萎縮作用におけるユビキチンリガーゼの影響について検討した。検討の結果、DOX投与によって心筋に、ユビキチンリガーゼatrogen-1の遺伝子発現が増強することを明らかにした。さらに心筋にアデノウイルスベクターを用いてatrogen-1を強制発現させた検討において、心筋細胞の萎縮が惹き起こされることが示された。これまでの報告においても、atrogen-1は心筋細胞サイズの制御に関わっていることが知られており、今回の検討におけるDOX心筋傷害においても、atrogen-1発現誘導を介してUPSが活性化されることにより、心筋細胞萎縮が惹起されることが示された。

これまでの報告では、atrogen-1の発現はAkt/FOXO経路を介して制御されていることが明らかにされている。しかしながら、本検討において、DOX誘導のatrogen-1発現は、Aktによる抑制は受けるが、FOXO転写因子の活性化は介さないことが示された。また、DOXによるatrogen-1発現誘導にはp38-MAPKの活性化が重要であることを本検討において示した。そして、DOXによるp38-MAPK誘導はAktによって抑制されることも明らかにした。

以上の検討により、DOX心筋傷害に対するUPSの病態形成への意義について、新たな応答因子としてatrogen-1の寄与を提言した。さらに、Aktの活性化により、atrogen-1を抑制することで、DOX誘発心筋傷害は抑えられる可能性を示した。それを支持する報告として、DOX投与ラットの心筋萎縮を、Aktシグナルの活性化により抑えたものもあり、Aktが今後のDOX心筋症の治療標的と成りえる可能性もある。

これまで、心不全の発症・増悪のメカニズムの研究は多くなされているが、未だ有効な治療標的分子は明らかとなっていない。今後のさらなる詳細な検討により、本検討において明らかとした、UPSを介した心筋傷害制御機構が心不全治療薬開発の一助につながることを期待する。

論文審査の結果の要旨

心筋細胞は生後まもなく分裂能力を失うため、病態時における心臓組織の恒常性を保つために

は、心筋傷害機構とそれに対する保護機構の詳細なメカニズムを把握した治療戦略が必要である。申請者は、生体内のタンパク質分解機構であるユビキチン・プロテアソーム系の心筋傷害における関与について着目し、心筋傷害時の筋肉特異的ユビキチンリガーゼであるatrogin-1の発現とその制御機構について詳細な検討を行った。

その結果、ドキシソルピシン心筋症マウスでは心臓が萎縮することを示し、その際にatrogin-1の遺伝子発現が増強することを明らかにした。また、atrogin-1を心筋細胞に強制発現させると、心筋は萎縮し、その作用はプロテアソームを介していることを明らかにした。これまでの報告においても、atrogin-1は心筋細胞サイズの制御に関わっていることが知られており、今回の検討におけるドキシソルピシン心筋傷害においても、atrogin-1発現誘導を介してユビキチン・プロテアソーム系が活性化されることにより、心筋細胞萎縮が惹起されることを見出した。

これまで、atrogin-1の発現はAkt/FOXO経路を介して制御されていることが明らかにされている。しかし本研究において、ドキシソルピシンによるatrogin-1発現は、Aktによる抑制は受けるが、FOXO転写因子の活性化を介さないことを示した。また、ドキシソルピシンによるatrogin-1発現誘導にはp38-MAPKの活性化が重要であることを明らかにした。さらにドキシソルピシンによるp38-MAPK発現誘導はAktによって抑制されることを新たに見出した。

以上の結果より、ドキシソルピシン心筋傷害におけるユビキチン・プロテアソーム系の病態形成への意義に関し、新たな応答因子としてatrogin-1の関与を示し、その発現制御メカニズムを提言した。これらの成績は、心不全の病態解明において有用な知見であり、学位に値するものと認めらる。