



Title	Carbacyclin induces carnitine palmitoyltransferase-1 in cardiomyocytes via peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) $\delta$ independent of the IP receptor signaling pathway
Author(s)	黒田, 忠
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49977">https://hdl.handle.net/11094/49977</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>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

【39】

氏 名	黒 田 忠
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学 位 記 番 号	第 22353 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 20 年 4 月 21 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Carbacyclin induces carnitine palmitoyltransferase-1 in cardiomyocytes via peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) $\delta$ independent of the IP receptor signaling pathway (Carbacyclin は心筋細胞において IP レセプターとは独立し PPAR $\delta$ を介して carnitine palmitoyltransferase-1 を誘導する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 堀 正二 (副査) 教授 川瀬 一郎 教授 澤 芳樹

## 論 文 内 容 の 要 旨

## 〔 目 的 〕

プロスタサイクリン及びその誘導体(PGI2)は、循環器領域においては臨床的に肺高血圧症における生命予後改善効果が確立している他、in vitro でもカテコラミン刺激による心筋肥大の抑制や、虚血再灌流障害の軽減等の保護的効果を有することが報告されている。従来、これらの効果は全て PGI2 の膜型レセプターである IP レセプターの活性化を介して発現するものと考えられてきた。一方、核内レセプターである peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)  $\delta$  は心筋細胞において、carnitine palmitoyltransferase-1 (CPT-1) をはじめとした、脂肪酸代謝の制御に重要な役割を果たしている酵素の転写活性を調節することにより、心筋エネルギー代謝に大きく関与し、心機能の維持のために必須であることが最近明らかとなっている。近年、脂肪細胞や結腸癌細胞等の非心筋細胞において、PGI2 が PPAR $\delta$  を介して種々の作用を発現することが報告されているが、心筋細胞においては未だかつてそのような報告はなされていない。そこで、本研究では心筋細胞において PGI2 が IP レセプター以外に PPAR $\delta$  を介して、心筋脂肪酸代謝の調節に関与することを明らかにすることを目的とした。

## 〔 方法ならびに成績 〕

PGI2 の誘導体である carbacyclin (cPGI2)を腹腔内注射したマウスの心臓より RNA を抽出し、Northern blot 法により CPT-1 mRNA の発現を観察したところ、時間依存性にその発現が増強した。次に、新生児ラット培養心筋細胞を用いて、cPGI2 の心筋細胞に対する直接作用について検討した。培養心筋細胞においても cPGI2 の刺激により、時間および濃度依存性に CPT-1 mRNA の発現が増強した。リガンドと結合して活性化した PPAR $\delta$  は、標的遺伝子のプロモーター領域に存在する PPAR responsive element (PPRE)と結合することにより、それぞれの遺伝子の転写を活性化する。そこで、PPRE-luciferase レポーター遺伝子をリポフェクション法により培養心筋細胞に導入し、cPGI2 による PPRE を介した転写活性の変化を検討した。cPGI2 の刺激により濃度依存性に luciferase 活性の亢進が観察された。一方、培養心筋細胞における cPGI2 による IP レセプターの情報伝達系の活性化を確認する目的で、CREB のリン酸化を Western blot 法により検討した。cPGI2 の刺激により濃度依存性に CREB のリン酸化が観察され、IP レセプターの情報伝達系の活性化が示唆されたが、これは protein kinase A 阻害剤である H-89 により抑制された。cPGI2 による CPT-1 mRNA の発現と PPRE を介した luciferase 活性の増強が、IP レセプターの情報伝達系に依るものであるかを確認する目的で、培養心筋細胞を H-89 で前処置することにより IP レセプターの情報伝達系を阻害した後 cPGI2 で刺激したが、これらの効果には何ら影響与えなかつた。一方、PPAR $\delta$  の活性を遮断するために dominant negative 型の PPAR $\delta$  を強発現するアデノウイルスを感染させた培養心筋細胞では、cPGI2 による CPT-1 mRNA の発現と PPRE を介した luciferase 活性の増強は有意に抑制された。さらに、培養心筋細胞において cPGI2 により活性化された PPAR $\delta$  と PPRE が結合することを確認するため、

マウス PPRE 遺伝子をプローブとしてゲルシフト・アッセイを行った。cPGI2 で刺激された心筋細胞由来の核抽出物と、放射性同位元素によりラベルされた PPRE プローブを反応させたところ、PPAR $\delta$  と PPRE の複合体と考えられるバンドが出現した。その特異性は非ラベル・プローブおよび変異型 PPRE プローブによる競合実験と、抗 PPAR $\delta$  抗体による複合体バンドのスーパー・シフトにより確認された。

次に、代表的疾患モデルである虚血心筋における cPGI2 の CPT-1 mRNA の発現への作用について検討した。心筋細胞を酸素吸収パウチを入れた密封容器内で培養したところ、CPT-1 mRNA の発現の有意な低下が認められたが、cPGI2 の前投与により CPT-1 mRNA の発現は維持された。

#### [ 総 括 ]

心筋細胞において、PGI2 が IP レセプターの情報伝達系ではなく PPAR $\delta$  を介し、CPT-1 mRNA の発現を増強し転写活性を亢進させることが明らかとなった。CPT-1 はミトコンドリアにおける脂肪酸代謝の律速酵素であると考えられている。従って、PGI2 が心筋脂肪酸代謝を調節することにより、心筋エネルギー代謝にも関与している可能性が示唆される。脂肪酸代謝から糖代謝への移行は不全心筋のエネルギー代謝の特徴とされているが、PGI2 が心筋エネルギー代謝を正常化させることも、その心筋保護作用の一序である可能性が本研究結果より推察された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究では、心筋の細胞内情報伝達系を詳細に解析することにより、心筋細胞においてプロスタサイクリン及びその誘導体(PGI2)が、従来その主たる作用機序とされてきた細胞膜上のIPレセプター以外にも、核内レセプターであるperoxisome proliferator-activated receptor (PPAR)  $\delta$ を介し、心筋エネルギー代謝の調節に関与することが初めて明らかとなった。

不全心や虚血心では、心筋のエネルギー産生機転に異常が生じ、エネルギーの枯渇を招くことが病態の一序をなしている場合があることが指摘されており、これを是正することは心筋に保護的に作用する可能性がある。既に臨床医療で汎用されている薬剤であるPGI2が心筋の病的エネルギー代謝を正常化させる可能性を示唆することにより、心疾患を心筋エネルギー代謝の側面から治療することへの展望を開いた功績は重要であり、学位の授与に値する。