

Title	Activation of MTK1/MEKK4 induces cardiomyocyte death and heart failure
Author(s)	溝手, 勇
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/54243">https://hdl.handle.net/11094/54243</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	溝 手 勇 <sup>いさむ</sup>
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 6 2 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 22 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Activation of MTK1/MEKK4 induces cardiomyocyte death and heart failure (MTK1/MEKK4の活性化は心筋細胞死および心不全を惹起する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 小 室 一 成 (副査) 教 授 金 田 安 史 教 授 楽 木 宏 実

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

MAPKシグナル伝達経路 (MAPKKK-MAPKK-MAPK) は酵母から哺乳類まで高度に保存されている細胞内シグナル伝達経路の一つであり、細胞生存、細胞増殖、細胞死などの様々な細胞機能を制御している。MAPKはERK、c-jun N-terminus Kinase (JNK) およびp38から構成される。これらの分子は心筋細胞肥大や心筋細胞死に関与していることが知られている。心筋細胞は終末分化細胞であり、細胞肥大により様々なストレスに応答するが、心筋細胞死は心機能低下に直結するため、細胞死を制御することは心臓において極めて重要である。従って、MAPKの上流に位置するMAPKKKの活性を制御することが細胞の運命を決定する上で重要な役割を果たすと考えられる。実際に、MAPKKKに属するASK1やTAK1が心不全の発症、進展に関与することが知られているが、心不全の発症進展のメカニズムは依然として十分に解明されていない。本研究では、MAPKKKに属するMTK1/MEKK4に着目し、心不全の発症、進展におけるMTK1/MEKK4の意義を検討した。

### 〔方法ならびに成績〕

まず、不全心におけるMTK1の活性を評価した。野生型マウスに横行大動脈縮窄による圧負荷手術を施行し心不全マウスを作成した。マウス圧負荷後不全心ではMTK1活性は上昇しており、心不全形成における関与を示唆した。そこでin vitro、in vivoにおけるMTK1の役割を解析した。MTK1の機能を検討するために、4種類のrecombinant adenovirus (野生型MTK1、恒常活性体MTK1ΔN、およびdominant negative体MTK1ΔK、MTK1K/R) を作成し、ラット新生仔培養心筋細胞に感染させた。MTK1の過剰発現 (Ad-MTK1) によりp38およびJNKはリン酸化された。MTK1恒常活性体 (Ad-MTK1ΔN) 発現アデノウイルスの感染はさらなるp38およびJNKのリン酸化を惹起するとともに細胞死を誘導した。他のアデノウイルスの感染ではp38、JNKのリン酸化および細胞死は誘導されなかった。心筋細胞のHoechst染色により、Ad-MTK1ΔN感染細胞は核の濃縮および分葉化を認めた。またアポトーシスの実行カスパーゼであるcaspase 3の活性化の上昇を認めたことから、MTK1活性の上昇は心筋細胞においてアポトーシスを誘導することが明らかになった。

次に細胞死刺激による心筋細胞のMTK1活性を評価した。

MTK1活性は過酸化水素水刺激により著明に上昇し、過酸化水素水刺激による心筋細胞死はdominant negative体アデノウイルス (Ad-MTKΔK) 感染により部分的に抑制された。以上のことから、過酸化水素水刺激によるJNKおよびp38活性化の上流にMTK1が存在し、心筋細胞死を制御していることが示唆された。

次に、in vivoにおけるMTK1活性化の意義を検討するためにMTK1ΔN発現トランスジェニックマウスを作成した。タモキシフェン誘導性にα-myosin heavy chainプロモ

ーターを活性化することにより下流のCre組換え酵素が心筋特異的に発現するトランスジェニックマウスと交配することによりMTK1ΔN発現ダブルトランスジェニックマウスを得た。ダブルトランスジェニックマウスにタモキシフェン投与し心筋細胞にMTK1ΔNを発現させると1週間以内に死亡した。コントロール群ではタモキシフェン投与による変化は認めなかった。タモキシフェン投与2日後に心臓超音波法を用いて心機能を評価した。タモキシフェン投与後、コントロール群には変化を認めなかったが、ダブルトランスジェニックマウスは心拡大、心収縮力低下を示した。また心重量、肺重量の増加を認めたことから心不全を呈していると考えられた。in vitroと同様にMTK1ΔNの発現によりJNKおよびp38のリン酸化は亢進した。さらにcaspase 3の活性化およびTUNEL染色法によるアポトーシス細胞の増加を認めたことから、MTK1ΔNが心筋細胞に発現するとアポトーシスが亢進し、心筋細胞の減少をきたし心不全を惹起すると考えられた。

### 〔総括〕

本研究により、MTK1活性の上昇はp38およびJNKのリン酸化を亢進しアポトーシスを誘導し、心筋細胞死および心不全を誘導することが明らかになった。

## 論文審査の結果の要旨

本研究はMitogen-activated protein (MAP) kinase kinase kinaseの一種であるMAP Three Kinase 1 (MTK1) の心不全発症および進展への関与を検討したものである。まずマウス圧負荷後不全心においてMTK1活性が上昇することを示した。アデノウイルスを用いたラット新生仔培養心筋細胞におけるin vitroでの検討ではMTK1活性の上昇がアポトーシスを誘導すること、またMTK1活性上昇によるアポトーシスにはMTK1の下流MAP kinaseであるp38およびJNKの活性化が関与していることを明らかにした。さらに、心筋細胞における過酸化水素刺激によりMTK1活性は上昇し、MTK1 dominant negative体によるMTK1活性阻害はp38およびJNK依存性に過酸化水素刺激による心筋細胞死を抑制することを明らかにした。心筋特異的活性型MTK1発現トランスジェニックマウスを作成し、in vivoにおいても心筋におけるMTK1活性の上昇がp38およびJNKの活性化を惹起し、心筋細胞アポトーシスを誘導することにより心不全を発症することを示した。今後の新たな心不全治療開発につながる可能性のある有用な発表と思われる。

以上より、本研究は学位の授与に値すると考えられる。