OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Lysophosphatidylserine induces necrosis in pressure overloaded male mouse hearts via G protein coupled receptor 34
Author(s)	杉原, 隆太
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/95950
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、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

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	杉原　隆太
論文題名 Title	Lysophosphatidylserine induces necrosis in pressure overloaded male mouse hearts via G protein coupled receptor 34（マウス圧負荷心におけるGPR34を介したリゾフォスファチジルセリンによるネクローシスの誘導）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

心不全は特発性拡張型心筋症や虚血性心疾患、心臓弁膜症、心筋炎などの様々な要因から生じ、多くの臨床研究で得られた知見に基づいた内服治療の成績は向上しているものの、いまだ死亡率は高く、特に先進国では新たな治療戦略の開発は喫緊の課題となっている。心不全の発症・進展に関するメカニズムとして細胞死の研究が盛んにおこなわれ、細胞死の制御による心保護作用にも期待が持たれているが、いまだ確立されてはいない。カルシウム非依存性ホスフォリパーゼ$A_2\beta$ ($iPLA_2\beta$) はリン脂質の*sn*-2位における加水分解により脂質メディエーターを産生し、核の収縮を伴うカスパーゼ非依存性細胞死に関与する。そこで我々は、心筋細胞における$iPLA_2\beta$よる細胞死の誘導が、心不全の進展に寄与するのではないかとの仮説を立て研究を行うこととした。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

$iPLA_2\beta$の心筋細胞における役割を明らかにするために、心筋細胞特異的$iPLA_2\beta$ノックアウトマウスを使用した。$iPLA_2\beta$をコードする遺伝子*Pla2g6*に*LoxP*配列を挿入したfloxマウスを作成し、α-myosin heavy chain promoter (*Myh6*)の制御下に*Cre* recombinase(*Cre*)を発現するトランスジェニックマウスと交配することで、心筋細胞特異的$iPLA_2\beta$ノックアウトマウス（$Pla2g6^{-/-}$）を作製した。

10週齢の定常状態において、$Pla2g6^{-/-}$マウスは対照群（$Pla2g6^{+/+}$マウス）と比較して心機能や組織重量に差を認めず、$iPLA_2\beta$は心臓の発生や生下後の発達には必須ではないと考えられた。そこで、圧負荷ストレス応答における$iPLA_2\beta$の機能を検討するため、横行大動脈縮窄術 (Transverse Aortic Constriction ； TAC) による圧負荷での心不全誘導を行うこととした。TAC術後28日で、$Pla2g6^{-/-}$マウスは$Pla2g6^{+/+}$マウスに比して有意に低い死亡率を示した。この表現型の発生機構を検討するため、$Pla2g6^{+/+}$マウスの約半数が生存している術後5日で詳細な解析を行った。

$Pla2g6^{-/-}$マウスにおいては、$Pla2g6^{+/+}$マウスに比して左心機能は維持され、心筋組織におけるネクローシス性細胞死が軽減されていた。

液体クロマトグラフィー質量分析法による網羅的解析を用いて、$iPLA_2\beta$により産生されたどの脂質メディエーターが心不全発症に関与するかを検討したところ、TACで誘導される18:0リゾホスファチジルセリン(LysoPS)の産生が、$Pla2g6^{-/-}$マウス心と比較して$Pla2g6^{-/-}$マウス心では有意に抑制されていた。

LysoPSが心筋細胞にネクローシス性細胞死を誘導するかを評価するために、生後1日齢のラット心から心筋細胞(NRCM)を単離・培養しLysoPSで刺激したところ、ネクローシス性細胞死が誘導された。さらにLysoPSの受容体であるGPR34をノックダウンしたNRCMでは、ネクローシス性細胞死が抑制された。

LysoPS依存性のネクローシス性細胞死が心不全発症に関与するかを*in vivo*で検討するために、GPR34全身ノックアウトマウス($GPR34^{-/-}$)に対して圧負荷を心臓に加えた。$GPR34^{-/-}$マウスでは野生型マウス($GPR34^{+/+}$)と比較して左心機能は維持され、心筋組織内でネクローシス性細胞死が軽減された。

〔総　括(Conclusion)〕

本研究では、圧負荷心において$iPLA_2\beta$によりLysoPSが産生され、その受容体であるGPR34を介してネクローシス性細胞死が誘導されることにより、左心機能低下が惹起されることが示された。この結果は新たな心不全治療戦略の開発・応用に繋がる可能性がある。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　杉原　隆太

	（職）	氏　名
論文審査担当者	主　査　大阪大学教授	坂田泰史
	副　査　大阪大学教授	宮川繁
	副　査　大阪大学教授	武田理宏

論文審査の結果の要旨

本論文では、カルシウム非依存性ホスフォリパーゼ$A_2\beta$ ($iPLA_2\beta$) が、脂質メディエーターを産生する点、核の収縮を伴うカスパーゼ非依存性細胞死に関与する点に着目し、研究を開始された。心筋細胞特異的$iPLA_2\beta$ノックアウトマウスを作製し、横行大動脈縮窄術による圧負荷での心不全誘導を行ったところ、ノックアウトマウスでは、対照群と比して有意に低い死亡率、左心機能の維持、ネクローシス性細胞死の軽減、18:0リゾホスファチジルセリン(LysoPS)の産生抑制を認めた。ラット単離心筋細胞をLysoPSで刺激するとネクローシス性細胞死が誘導されたが、G-protein coupled receptor 34 (GPR34)のノックダウンにより軽減された。GPR34全身ノックアウトマウスに対して圧負荷を心臓に加えたところ、野生型マウスと比較して左心機能は維持され、ネクローシス性細胞死が軽減された。

本研究の結果は新たな心不全治療戦略の開発・応用に繋がる可能性があり、今後の飛躍が大きく期待されることから博士（医学）の学位授与に値すると考える。