

# 論文内容要旨

## 論文題目

Adenovirus-mediated overexpression of diacylglycerol kinase  $\zeta$   
inhibits endothelin-1-induced cardiomyocyte hypertrophy

(アデノウイルスによる細胞内ジアシルグリセロールキナーゼ $\zeta$ の  
過剰発現は、エンドセリン-1による心筋細胞肥大を抑制する)

責任講座： 器官病態統御学講座 循環・呼吸・腎臓分野 講座

氏名： 高橋 大

## 【内容要旨】

心肥大は、増大した心負荷に対して、分裂能を持たない心筋細胞が肥大することにより心拍出量を保持しようとする適応現象と考えられている。また一方で、心肥大は心臓・血管死や突然死などの独立した予後規定因子でもある。そのため、心肥大形成の分子機序を解明することは心不全への進行を抑制する上で重要である。

Diacylglycerol (DAG)は、endotheline-1 (ET-1)や angiotensin IIなどをリガンドとする Gq protein-coupled receptor 刺激により産生される細胞内セカンドメッセンジャーで、protein kinase C (PKC)を活性化する。PKCを含む Gq protein-coupled receptor を介したシグナル伝達系の活性化は心肥大の形成に重要な役割を果たしていることが数多く報告されている。一方、diacylglycerol kinase (DGK)は DAG をリン酸化し不活性化することで、細胞内 DAG レベルの調節を行っていると考えられている。しかし、これまで心筋細胞における DGK の機能については十分に検討されていない。

3つの DGK サブタイプ(DGK $\alpha$ ,  $\varepsilon$ ,  $\zeta$ )が新生仔ラット培養心筋細胞に発現しており、DGK $\zeta$ が最も強く発現していた。定量的 polymerase chain reaction の結果、ET-1 刺激により DGK $\zeta$ の mRNA の発現が有意に上昇した。次にアデノウイ

ルスを用い DGK $\zeta$ 遺伝子を過剰発現させることで、心筋細胞における DGK $\zeta$ の機能を検討した。ET-1による PKC $\epsilon$  isoform の細胞質から細胞膜への translocation (活性化)は、DGK $\zeta$ の過剰発現により抑制された。Extracellular-signal regulated kinase (ERK)は PKC の下流のシグナル伝達分子であり、心肥大形成時に活性化することが報告されているが、ET-1 によるこの ERK の活性化も DGK $\zeta$ の遺伝子導入により抑制された。さらに ET-1 による転写因子 activator protein-1 (AP1)の DNA 結合活性の増加も DGK $\zeta$ により抑制された。細胞肥大形成時の心筋細胞は、胎児型遺伝子の再発現などの形質転換をきたすことが報告されている。ET-1 刺激により増加した胎児型遺伝子 atrial natriuretic factor (ANF)の mRNA 発現は、DGK $\zeta$ の遺伝子導入により抑制された。さらに ET-1 による心筋細胞面積の増大も DGK $\zeta$ 遺伝子の導入により抑制された。

これらの検討により、DGK $\zeta$ が DAG-PKC 活性を制御することで、ET-1 による心筋細胞肥大を抑制することが明らかになった。心肥大の形成および心不全への進行に深く関与している Gq protein-coupled receptor を介する細胞内シグナル伝達系の調節因子として、DGK $\zeta$ は重要な役割を果たしていることが示唆された。

平成 17 年 1 月 20 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿


## 学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 高橋 大  
論文題目： Adenovirus-mediated overexpression of diacylglycerol kinase  $\zeta$  inhibits endothelin-1-induced cardiomyocyte hypertrophy (アデノウイルスによる細胞内ジアシルグリセロールキナーゼ $\zeta$ の過剰発現は、エンドセリン-1による心筋細胞肥大を抑制する)

審査委員：主審査委員

八巻 通安 

副審査委員

川前 金幸 

副審査委員

中川 義人 

審査終了日：平成 16 年 12 月 27 日

### 【 論文審査結果要旨 】

本論文は細胞内 Diacylglycerol(DAG)レベルの調節を行っているタンパク diacylglycerol kinase(DGK)の $\zeta$ サブタイプが心肥大の形成に関与しているか否かを、新生仔ラット培養心筋細胞を用いて in vitro に検討したものである。

本論文ではアデノウイルスベクターを用い新生仔ラット培養心筋細胞に DGK $\zeta$ 遺伝子を導入 DGK $\zeta$ 遺伝子を過剰発現させた。DGK $\zeta$ 遺伝子導入心筋細胞では、DGK $\zeta$ が強く発現していた。DGK $\zeta$ 遺伝子導入心筋細胞とコントロールの心筋細胞にエンドセリン1(ET-1)を添加し培養することで心筋肥大を誘導し検討を行った。DGK $\zeta$ 遺伝子導入心筋細胞ではコントロールに比べ、下記の結果が得られた。【PKC $\epsilon$ 活性化】protein kinase C (PKC) PKC $\epsilon$  活性化を細胞質から細胞膜への移行を検出することで測定した。DGK $\zeta$ 遺伝子導入心筋細胞では PKC $\epsilon$ の活性化が抑制された。【ERK 活性化】PKC の下流のシグナル伝達分子 Extracellular-signal regulated kinase (ERK)の活性化(リン酸化)を検討した。DGK $\zeta$ 遺伝子導入心筋細胞では ERKの活性化が抑制された。【ANF mRNA 発現】心肥大関連遺伝子である atrial natriuretic factor (ANF) mRNA の発現を検討した。DGK $\zeta$ 遺伝子導入心筋細胞では ANF の mRNA 発現は抑制された。【心筋細胞面積】DGK $\zeta$ 遺伝子導入心筋細胞ではコントロールで見られた心筋細胞面積の増大は抑制された。

これらの検討により、DGK $\zeta$ が DAG-PKC 経路の活性を制御することで、ET-1 による心筋細胞肥大を抑制することが明らかになった。本論文により DGK $\zeta$ は心肥大の形成および心不全への進行に深く関与している Gq protein-coupled receptor を介する細胞内シグナル伝達系の調節因子として、重要な役割を果たしていることが示唆された。

本論文に対し審査委員会は研究方法も適切であり独創的が高く、優れた論文であると評価し、博士論文に相応であると認定した。

(1, 200字以内)