

# 論文内容要旨

## 論文題目

Cardiac-specific overexpression of diacylglycerol kinase  $\zeta$  prevents  
angiotensin II-induced cardiac hypertrophy in transgenic mice

(心臓特異的 diacylglycerol kinase  $\zeta$  過剰発現マウスにおいてアンジオテンシン  
II による心肥大は抑制される)

責任講座：器官病態統御学講座（第一内科学講座）

氏名： 有本 貴範

## 【内容要旨】

心肥大は増大した負荷に対する代償性変化であるが、しかし一方で心不全発症の基盤となり、また独立した冠疾患、心血管死の危険因子である。アンジオテンシン II (Ang II) は、血圧上昇のみならず心肥大や心不全の発症と進展に密接に関与することが知られている。

心肥大に関連した細胞内シグナル伝達系の代表的な経路の一つに Gq 蛋白共役型受容体を介する経路がある。この受容体のリガンドとして Ang II、エンドセリン-1、フェニレフリン等が知られており、心筋細胞では、これらのリガンド刺激により細胞内の diacylglycerol (DAG) 濃度が上昇する。DAG は下流の Protein kinase C (PKC) を強力に活性化し、さらにその下流へとシグナルを伝達していく。ヒト不全心筋において、PKC 活性が亢進していたという報告や、PKC を心筋に過剰発現させたマウスが、拡張型心筋症類似の病態を呈したという報告がある。diacylglycerol kinase (DGK) は細胞内の DAG をリン酸化して不活性化することにより、PKC の活性の調節因子として働くことが示唆されている。しかしこれまで、心筋細胞や心臓組織において DGK の機能に関してほとんど検討されていない。

我々は DGK $\zeta$  の機能を *in vivo* で検討するため、 $\alpha$ -myosin heavy chain (MHC) promoter を用いて心臓特異的に DGK $\zeta$  を過剰発現したマウス (DGK $\zeta$ -TG) を山形大学遺伝子実験施設で作製し、4 系統の DGK $\zeta$ -TG マウスを得た。心臓にのみ特異的に DGK $\zeta$  遺伝子が発現していることを確認した。心臓での遺伝子発現が最も強い家系では左心室の DGK $\zeta$  蛋白レベル、酵素活性は野生型マウスの約 20 倍であった。8 週齢において血圧、心拍数、左心室重量、心臓超音波検査で評価した左心室機能、組織学的所見、単離心筋細胞機能には、野生型マウスと DGK $\zeta$ -TG マウスに明らかな違いはなかった。

次に、浸透圧ミニポンプを用いて、マウスに Ang II を持続皮下投与し、心肥大シグナル活性について検討した。血圧上昇を来さない低容量の Ang II 持続投与により、野生型マウスでは、PKC $\alpha$ ,  $\epsilon$  isoform の活性化と、心肥大で誘導される胎児型遺伝子 (atrial natriuretic factor,  $\beta$ -MHC) の発現、左心室重量の増加、また心筋細胞面積の増大を認めた。一方、DGK $\zeta$ -TG マウスでは Ang II による PKC $\alpha$ ,  $\epsilon$  isoform の活性化は抑制され、胎児型遺伝子の発現は認めず、心筋細胞面積の増大と心重量の増加も認めなかった。

心臓特異的 DGK $\zeta$  過剰発現により血行動態や心機能への影響なしに、Ang II による心肥大シグナルの活性化と心肥大反応が抑制された。Gq 蛋白共役型受容体を介する細胞内シグナル伝達系が心肥大形成に深く関与しており、DGK $\zeta$  がその調節因子として重要な役割を演じ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： 有本貴範  
論文題目： Cardiac-specific overexpression of diacylglycerol kinase  $\zeta$  prevents angiotensin II-induced cardiac hypertrophy in transgenic mice (心臓特異的 diacylglycerol kinase  $\zeta$ 過剰発現マウスにおいてアンジオテンシン II による心肥大は抑制される)

審査委員：主審査委員

副審査委員

副審査委員

八巻 通安  
花岡 一子  
真弘 光章



審査終了日：平成 17 年 1 月 7 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、心臓特異的に DGK $\zeta$ を過剰発現させた遺伝子改変マウス(DGK $\zeta$ -TG マウス)を作製して in vivo で検討したものである。

遺伝子改変マウスは山形大学遺伝子実験施設にて作製された。心臓特異的に発現させるため  $\alpha$ -myosin heavy chain (MHC) promoter を用い、これに DGK $\zeta$ 遺伝子を結合することで DGK $\zeta$ -TG マウス を作製した。得られた DGK $\zeta$ -TG マウスの左心室での DGK $\zeta$ 蛋白レベル、酵素活性は野生型マウスの約 20 倍であった。DGK $\zeta$ -TG マウスは野生型マウスに比較し 8 週までの体重、血圧、心拍数、心臓超音波検査所見、組織学的所見、単離心筋細胞の機能は同等であった。そこで DGK $\zeta$ -TG マウス・野生型マウスにアンジオテンシン II を持続投与し、以下の心肥大シグナル活性および心肥大反応について検討し、以下の結果を得た。【PKC】protein kinase C (PKC) (および $\epsilon$ の活性化は細胞質から細胞膜への translocation で検出した。DGK $\zeta$ -TG マウスでは PKC (および $\epsilon$ の細胞膜への translocation が抑制された。【心肥大関連遺伝子】DGK $\zeta$ -TG マウスでは心肥大で誘導される胎児型遺伝子 atrial natriuretic factor (ANF)、 $\beta$ -MHC の mRNA 発現は抑制された。【心肥大計測】DGK $\zeta$ -TG マウスでは心重量、左心室重量、心筋細胞面積の増大は抑制された。

以上の検討から DGK $\zeta$ -TG マウスでは、アンジオテンシン II による心肥大シグナルの活性化と心肥大反応が抑制されたことが明らかになった。すなわち DGK $\zeta$ が心肥大形成に調節因子として重要な役割を演じていることが、この in vivo の検討で明確になった。

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)