

論文内容要旨

論文題目

Diacylglycerol kinase ζ は p53 のユビキチン分解を誘導しドキシソルビシン誘発心毒性を減弱する

責任講座： 内科学第一 講座
氏名： 立花 紳吾

【内容要旨】 (1,200 字以内)

【背景】 ドキシソルビシン(Dox)誘発心毒性は、がんサバイバーの予後を悪化させるため、医学的に重要な問題である。p53 は Dox 誘発心毒性を誘導する重要な蛋白質である。Diacylglycerol kinase ζ (Dgk ζ)は、心筋細胞に豊富に存在する分子量 130 kDa の酵素である。Dgk ζ は、神経細胞において p53 のタンパク質発現を制御すると報告された。本研究では、Dox 誘発心毒性の機序を解明するために、Dgk ζ の機能的役割を、E6-associated protein (E6ap)や C-terminus of Hsp70-interacting protein (Chip)などの Heat shock protein 70 (Hsp70)と関連するユビキチン転移酵素との相互作用に焦点を当てて検討を行った。

【方法と結果】 免疫沈降法により、Dgk ζ が Hsp70 や E6ap と相互作用することを確認した。しかし、Chip との相互作用は認めなかった。心筋特異的 Dgk ζ 過剰発現マウス(Dgk ζ -Tg)と野生型マウスの同腹仔に Dox を腹腔内投与した。Dox 投与後、Dgk ζ -Tg マウスは野生型マウスと比較して、p53 のタンパク質発現が少なく、心機能が保持され、生存率が高率であった。Dox 刺激後の Dgk ζ -Tg マウスの心組織の RNA シークエンス解析を行い、発現変動遺伝子として Hsp70 をコードする *Hspa1b* を同定した。心筋細胞に Dgk ζ を過剰発現すると、Dox 刺激後の p53 のユビキチン・プロテアソーム分解が促進され、心筋細胞のアポトーシスが抑制された。これは E6ap をロックダウンすることで、リバースされた。Dgk ζ は、ankyrin-like repeats を介して E6ap と相互作用した。Ankyrin-like repeats を欠失した Dgk ζ の変異体を過剰発現しても、Dox 刺激による p53 発現を抑制できなかった。また、Dgk ζ を過剰発現した心筋細胞で、Chip をロックダウンすると、p53 および cleaved caspase-3 の発現レベルが増加した。

【結論】 Dgk ζ は、Hsp70 および E6ap や Chip などのユビキチン転移酵素と相互作用することで、p53 のユビキチン・プロテアソーム分解を促進した。心筋細胞のアポトーシスを抑制し、Dox 誘発心毒性を軽減した。Dgk ζ は、Dox 誘発心毒性の新たな治療標的となる可能性が示唆された。

キーワード: Dgk ζ , p53, ドキシソルビシン誘発心毒性, ユビキチン-プロテアソーム系, E6ap, Hsp70, Chip

令和 6 年 12 月 25 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： 立花 紳吾

論文題目： Diacylglycerol kinase ζ は p53 のユビキチン分解を誘導しドキシソルビシン誘発心毒性を減弱する

審査委員：主審査委員 山口 浩 明



副審査委員 小原 祐 太 郎



副審査委員 吉岡 孝 志



審査終了日： 令和 6 年 12 月 24 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

ドキシソルビシン (Dox) は、広く使用されている抗癌薬であるが、副作用として用量依存的な心毒性を有し、不可逆的な心機能障害を引き起こす。これまでに、Dox 誘発心毒性の発症機序に p53 が関連することが報告されており、p53 のタンパク質発現はユビキチン・プロテアソーム系によって厳密に制御されていることが示されている。Diacylglycerol kinase (Dgk) は、ジアシルグルセロールのホスファチジン酸へのリン酸化を触媒する酵素である。Dgk ζ は心臓における Dgk の主要なアイソフォームであり、心不全モデルマウスの心肥大抑制に関与することが報告されている。培養細胞を用いた検討で、細胞質の Dgk ζ が Mdm2 と相互作用し、p53 のユビキチン化を誘導することでタンパク質発現を調節することが報告されたが、Dox 誘発心毒性における Dgk ζ の機能的役割は未解明である。本研究では、Dgk ζ ・Tg マウスが Dox 投与後に心機能を保持し生存率を改善するか、さらに、Dgk ζ が p53 と結合し、ユビキチン転移酵素を介してユビキチン・プロテアソーム分解を促進し、Dox 誘発心毒性から心筋細胞を保護するか、を目的に種々検討を実施した。

免疫沈降法により、Dgk ζ が E6ap や Hsp70 と相互作用することを見出した。心筋特異性 Dgk ζ ・Tg マウスは野生型マウスと比較して、Dox 誘発心毒性における p53 のタンパク質発現が抑制され、心機能や生存率が改善した。Dox 刺激後の Dgk ζ ・Tg マウスの心組織の RNA シーケンス解析を行い、発現変動遺伝子として *Hspa1b* を同定した。心筋細胞に Dgk ζ を過剰発現すると、Dox 刺激後の p53 のユビキチン・プロテアソーム分解が促進され、心筋細胞のアポトーシスが抑制された。これは E6ap をノックダウンすることでリバースされた。Dgk ζ は、ankyrin-like repeats を介して E6ap と結合することを明らかにした。さらに、Dgk ζ 過剰発現細胞において、Chip または Mdm2 をノックダウンすると Dox 刺激後の p53 および cleaved caspase-3 の発現レベルが増加した。

以上、本研究成果より、Dgk ζ が Dox 誘発心毒性において、Hsp70 および E6ap や Chip、Mdm2 などのユビキチン転移酵素と相互作用することで心筋細胞における p53 の発現とアポトーシスを厳密に制御していることを解明し、Dgk ζ が Dox 誘発心毒性の新たな治療標的となる可能性を示した。

学位論文審査会においては、実験手法に関して詳細に記述すること、一部の実験結果の解釈を修正することなどの指摘があった。以上の修正を持って、本研究が学位論文に値するとの結論を得た。