

# 論文内容要旨

## 論文題目

Cardiac nuclear high-mobility group box 1 ameliorates angiotensin II induced pathological cardiac hypertrophy by inhibiting DNA damage response pathway

(核内 HMGB1 は DNA 傷害応答を介してアンジオテンシン II による病的な心臓リモデリングを抑制する)

責任講座：内科学第一講座

氏名：高橋 徹也

## 【内容要旨】 (1,200 字以内)

【背景】 High-mobility group box 1 (HMGB1) は核内に存在する非ヒストン DNA 結合タンパク質であり、核の恒常性維持や DNA 修復に関与することが知られている。私たちはこれまでの研究で心筋細胞核内 HMGB1 が心不全モデルマウスにおいて DNA 傷害を抑制し、心不全の進行を抑えることを報告した。しかし、核内 HMGB1 が心不全や心肥大に保護的に働く詳細なメカニズムについては不明である。

【方法・結果】 ヒト心筋生検標本、新生仔ラット培養心筋細胞、心筋細胞特異的 HMGB1 過剰発現マウスを用いて、核内 HMGB1 と心肥大との関連について検討を行った。ヒト心不全患者の心筋生検標本を用いて免疫染色を行ったところ、健常者の心筋細胞と比較して有意に心筋細胞の核内 HMGB1 の発現が低下しており、核内 HMGB1 発現低下は心筋細胞肥大、心筋線維化、血清 brain natriuretic peptide (BNP) 値と有意な相関を示した。また、心不全患者の心筋細胞では健常者の心筋細胞と比較して DNA 傷害応答の調節酵素である ataxia telangiectasia mutated (ATM) の発現が有意に上昇していた。新生仔ラット培養心筋細胞を用いた検討では、免疫沈降にて HMGB1 と ATM の相互作用を認め、アンジオテンシン II 投与にてその相互作用は減弱した。新生仔ラット培養心筋細胞に HMGB1 を過剰発現させると、アンジオテンシン II 投与後の DNA 傷害マーカー  $\gamma$  H2AX と ATM の上昇が抑制された。HMGB1 を siRNA を用いて抑制すると、アンジオテンシン II 投与後の  $\gamma$  H2AX と ATM の活性化が増強した。さらに、HMGB1 を抑制するとアンジオテンシン II 投与による培養心筋細胞の肥大化が増強し、extracellular signal-regulated kinase1/2 (ERK1/2) のリン酸化が亢進した。ATM 阻害剤 KU55933 の前投与により、アンジオテンシン II による ERK1/2 の活性化は有意に抑制された。心筋特異的 HMGB1 過剰発現マウスでは、野生型マウスと比較して、アンジオテンシン II 投与による心肥大および心筋の線維化が抑制された。また、心筋特異的 HMGB1 過剰発現マウスでは  $\gamma$  H2AX と ATM の活性が低く、DNA 傷害が有意に抑制された。さらに、心筋特異的 HMGB1 過剰発現マウスに KU55933 を投与すると、アンジオテンシン II による心肥大および心筋線維化を共同的に抑制した。

【結論】 核内 HMGB1 は ATM 活性を制御し、アンジオテンシン II による DNA 傷害と DNA 傷害応答を減弱させることで、病的な心臓リモデリングを抑制すると考えられた。DNA 傷害応答を標的とした治療は心肥大と心不全に対する新たな治療戦略の一つになることが示唆された。

平成30年1月17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 徹也

論文題目：Cardiac nuclear high-mobility group box 1 ameliorates angiotensin II induced pathological cardiac hypertrophy by inhibiting DNA damage response pathway  
(核内 HMGB1 は DNA 傷害応答を介してアンジオテンシン II による病的な心臓リモデリングを抑制する)

審査委員：主審査委員

石井 邦明



副審査委員

北中 千史



副審査委員

鈴木 民夫



審査終了日：平成30年1月15日

### 【 論文審査結果要旨 】

High-mobility group box 1 (HMGB1) は核内に存在する非ヒストン DNA 結合タンパク質であり、DNA 損傷の修復、転写調節などの機能を担っている。本学部内科学第一講座では、これまでに心筋細胞の核内 HMGB1 が心不全モデルマウスにおける DNA 傷害を減弱するとともに、心肥大・心不全の進行を抑制することを明らかにしている。しかしながら、その詳細な機序は明らかになっていない。そのため、高橋徹也君は、核内 HMGB1 が心肥大・心不全に対して保護的に働く機序を明らかにすることを目的に、本研究を行った。主要な結果は以下の通りである。

1. 心筋生検標本を組織学的に検討したところ、健常者と比較して、心不全患者の心筋細胞核内における HMGB1 発現の低下とリン酸化された ataxia telangiectasia mutated (ATM) 発現の増加 (ATM 活性の増加) が認められた。ATM は DNA の傷害応答における主要な調節酵素である。
2. 新生仔ラット培養心筋細胞において、アンジオテンシン II (AngII) 刺激によって DNA 傷害マーカー ( $\gamma$ H2AX) の上昇・ATM 活性の増加が認められた。それらは、HMGB1 の過剰発現によって抑制され、siRNA による HMGB1 のノックダウンによって増強された。
3. また、AngII 刺激により認められた培養心筋細胞の肥大と、肥大に関わる ERK1/2 活性の亢進は、HMGB1 の過剰発現によって抑制され、ノックダウンによって増強された。
4. 免疫沈降法による検討によって、HMGB1 と ATM が相互作用していることが明らかになった。また、その相互作用は、AngII の投与によって減弱し、AngII の作用における ATM の関与が示唆された。
5. ATM 阻害剤は、AngII 刺激による ERK1/2 活性の亢進を抑制した。
6. 心筋特異的 HMGB1 過剰発現マウスは、野生型と比べ、AngII 刺激による心肥大および心筋線維化の程度が弱かった。また、 $\gamma$ H2AX・ATM 活性の変化は HMGB1 による DNA 傷害の抑制を示していた。
7. 心筋特異的 HMGB1 過剰発現マウスにおいて、ATM 阻害剤を投与すると AngII 刺激による心肥大および心筋線維化の程度が、さらに弱くなった。

本研究は、心肥大・心不全の抑制に関わる心筋細胞核内 HMGB1 の新たな機序を示唆するものであり、基礎医学的な重要性ならびに臨床的意義を有している。学位論文については修正を要する箇所があるが、審査会は本研究が学位に値するものと判定した。