

論文内容要旨

論文題目

High-mobility Group Box 1 Attenuates Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis via Heat Shock Protein Beta 1 Induction in Doxorubicin-induced Cardiomyopathy (HMGB1によるHSPB1の発現誘導はドキシソルビシン心筋症によるミトコンドリア機能不全と心筋アポトーシスを抑制する)

責任講座： 内科学第一 講座
氏名： 成味 太郎

【内容要旨】 (1,200 字以内)

【背景】

ドキシソルビシン心筋症は心不全を呈し、その死亡率は 50%にも及ぶことが知られている致死性疾患である。ドキシソルビシン投与量依存性に発症し、心筋のアポトーシスにより不可逆的な収縮障害を引き起こす。現在有効な予防法は確立されていない。

High mobility group box-1 (HMGB1)は、炎症性サイトカイン様の働きをするタンパク質であり、敗血症の病態形成に関与している。一方細胞内では、DNAの安定化、転写因子やオートファジーの調節といった働きが報告されている。腫瘍細胞ではアポトーシスを抑制し、抗がん剤抵抗性の形成に関与していることが報告されている。当講座からは、心筋梗塞巣の縮小に寄与していることを報告した。

本研究は、HMGB1 が抗アポトーシス作用のある熱ショックタンパク質である heat shock protein beta 1 (HSPB1)の発現を誘導することにより、HMGB1 がドキシソルビシン心筋症を予防するという仮説を立てて検討した。

【方法と結果】

培養心筋細胞において、HMGB1 過剰発現細胞では、ドキシソルビシン刺激により HSPB1 の発現量が亢進し、アポトーシス実行タンパク質である Caspase-3 の活性化は抑制された。アポトーシス細胞数は、HMGB1 過剰発現心筋で抑制されていた。ルシフェラーゼ解析では、HMGB1 過剰発現は、熱ショックタンパク質転写因子の転写活性領域である heat shock element の活性を増強させた。また免疫沈降法では、HMGB1 過剰発現が HMGB1 と熱ショックタンパク質転写因子である heat shock factor 2 (HSF2)との結合を増強させることが示され、HMGB1 は HSF2 との結合を介して HSPB1 の発現量を調節していることが示唆された。

次に、HMGB1 を過剰発現させたトランスジェニックマウス (HMGB1-Tg)を用いてドキシソルビシンを投与し、HMGB1 の心筋アポトーシスに与える影響を検討した。HMGB1-Tg では、ドキシソルビシン投与下で HSPB1 の発現量が亢進し、ミトコンドリアからのアポトーシス関連タンパク質の放出と Caspase-3 の活性化は抑制されていた。電子顕微鏡を用いた組織学的検討では、HMGB1-Tg でミトコンドリアの空砲化や崩壊が抑制されており、TUNEL 染色で評価したアポトーシス細胞数は有意に少なく、心臓超音波検査では心機能が保持されていた。ドキシソルビシン投与に対して、HMGB1-Tg は野生型と比較し優れた生存率を示した。

【結論】

HMGB1 は HSF2 を介し抗アポトーシス作用のある HSPB1 を増加させ、ドキシ

ソルビシン心筋症を抑制した。本研究はドキソルビシン心筋症に対する HMGB1 の心保護への関与を明らかにしたものであり、HMGB1 がドキソルビシン心筋症の新たな治療標的となる可能性が示唆された。

平成 27年 1月 19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： 成味 太郎

論文題目： **High-mobility Group Box 1 Attenuates Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis via Heat Shock Protein Beta 1 Induction in Doxorubicin-induced Cardiomyopathy (HMGB1による HSPB1 の発現誘導はドキソルビシン心筋症によるミトコンドリア機能不全と心筋アポトーシスを抑制する)**

審査委員：主審査委員 北中 千史



副審査委員 久保田 功



副審査委員 川前 金幸



審査終了日：平成 27年 1月 19日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

ドキソルビシン心筋症は心不全を呈し、その死亡率は50%にも及ぶことが知られている致死性疾患である。同心筋症はドキソルビシンの投与量依存性に発症し心筋のアポトーシスにより不可逆的な収縮障害を引き起こすが、現在有効な予防法は確立されていない。一方、high-mobility group box-1 (HMGB1)は炎症性サイトカイン様の働きをするタンパク質であり敗血症の病態形成への関与が指摘されている他、細胞内ではDNAの安定化や転写因子、オートファジーの調節といった働きが報告されている。腫瘍細胞におけるHMGB1発現はアポトーシスを抑制し抗がん剤抵抗性の形成に関与していることが報告されているが、申請者らのグループはこれまでに心筋細胞におけるHMGB1発現が心筋梗塞巣の縮小に寄与していることを報告している。今回申請者はHMGB1が抗アポトーシス作用のある熱ショックタンパク質であるheat shock protein beta 1 (HSPB1)の発現を誘導することによりドキソルビシン心筋症を予防するのではないか、という仮説を立て、一連の検討を行った。

申請者はまず心筋細胞にHMGB1を過剰発現するマウスを用いて、HMGB1発現がドキソルビシン投与による心筋細胞のアポトーシスを抑制して心機能を維持するとともに、投与後のマウス生存期間を延長することを見出した。また、培養心筋細胞を用いてHMGB1がドキソルビシンによるミトコンドリア機能低下を抑制する作用を有することを示すとともに、HMGB1がドキソルビシン依存的にHSPB1の発現を誘導すること、HSPB1がHMGB1の抗アポトーシス作用発現に必要とされることを示した。また、HMGB1がドキソルビシン依存的にHSPB1発現を誘導するメカニズムとしてHMGB1とHSF2複合体の増加が関与している可能性を示した。

以上の結果はin vivoにおいてHMGB1発現がドキソルビシン心筋症の発症抑制に寄与していることを初めて示したものであり、またHMGB1によるHSPB1転写制御におけるHSF2の関与を初めて明らかにしている。これらの結果はドキソルビシン心筋症予防法を考案するうえで有用な知見を与えるものと考えられ、従って本審査委員会は本研究が学位（医学）の授与に値するものと判定する。

(1, 200字以内)