

論文内容要旨

論文題目

The HECT-Type Ubiquitin E3 Ligase ITCH Interacts with Thioredoxin-Interacting Protein and Ameliorates Reactive Oxygen Species-Induced Cardiotoxicity

(HECT型ユビキチン転移酵素 ITCH は Thioredoxin-interacting protein と相互作用し活性酸素種による心筋障害を改善する)

責任講座： 内科学第一

講座

氏名： 大瀧 陽一郎

【内容要旨】(1,200字以内)

【背景および目的】

心不全は増加傾向にあり、治療法の進歩にも関わらず難治性で重要な死亡原因である。さまざまな器質的心疾患が心不全の原因となるが、心不全発症進展における共通の機序として酸化ストレスがあげられる。酸化ストレスは、心筋細胞内の活性酸素種の増加により生じる。生体内の活性酸素を除去する機構として Thioredoxin system が重要な役割を担っている。Thioredoxin 活性は Thioredoxin (Trx) と、内因性阻害物質 Thioredoxin-interacting protein (TXNIP) のバランスにより調節されている。心筋細胞は、酸化ストレス下では、TXNIP が抑制されることで、Thioredoxin が活性化し、活性酸素種を除去する。しかし、心筋細胞における TXNIP の抑制機構は未だ不明である。

ユビキチン転移酵素 ITCH は、標的タンパク質にユビキチンを付加しユビキチン・プロテアソーム系によるタンパク質分解を調節する酵素である。近年、ITCH と標的タンパク質の相互作用が、アポトーシスによる細胞死を抑制することが報告された。しかし、心筋細胞で ITCH の役割を検討した報告はない。本研究は、ITCH が TXNIP をユビキチン化し、プロテアソームによる分解を促進することで、Trx を活性化させ、活性酸素種による心筋障害を抑制するか検討した。

【方法と結果】

活性酸素種が心不全発症に重要な役割を果たす Doxorubicin 心筋障害モデルを用いた。培養心筋細胞を、Doxorubicin および hydrogen peroxide にて刺激すると、TXNIP の発現量は有意に低下した。プロテアソーム阻害剤 (MG132) 投与下ではこの TXNIP 減少は抑制されることから、TXNIP はユビキチン依存性分解により調節を受けると考えられた。そこで、Small interfering RNA を用いて ITCH をノックダウンすると、同様に TXNIP の分解が抑制された。反対に、ITCH を過剰発現した心筋細胞では、TXNIP 発現量が有意に低下したことより、ITCH がユビキチン・プロテアソーム系を介して TXNIP の分解を調節していることが示された。ITCH を過剰発現した心筋細胞では、Trx 活性が亢進し、活性酸素種を産生する NADPH oxidase の発現を抑制した。また、Doxorubicin および hydrogen peroxide 刺激による心筋細胞のアポトーシスが抑制された。ITCH 依存性の TXNIP 分解は、心筋保護的に働くことが示唆された。

更に、ITCH の機能を検討するため、 α MHC プロモーター下に心筋特異的に ITCH を過剰発現するトランスジェニックマウス (ITCH-Tg) を作成した。Doxorubicin を腹腔内投与し活性酸素種による心筋障害モデルを作製し検討を行った結果、ITCH-Tg では野生型マウスに比較して TXNIP の発現量が有意に低下していた。ITCH-Tg の doxorubicin 心筋障害マウスは野生型マウスに比較して有意に酸化ストレスおよびアポトーシスが抑制された。また、ITCH-Tg マウスでは野生型に比べ、心筋萎縮の抑制、心収縮能の改善を認め、有意に高い生存率を示した。

【結論】ユビキチン転移酵素 ITCH は、TXNIP をユビキチン化してプロテアソームによる分解を促進して Thioredoxin system を活性化し、酸化ストレスによる心筋障害を軽減する働きを有する。ITCH は心不全の新たな治療標的となる可能性が示唆された。

平成26年1月10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：大瀧陽一郎

論文題目：The HECT-Type Ubiquitin E3 Ligase ITCH Interacts with Thioredoxin-Interacting Protein and Ameliorates Reactive Oxygen Species-Induced Cardiotoxicity

(HECT型ユビキチン転移酵素 ITCH は Thioredoxin-interacting protein と相互作用し活性酸素種による心筋障害を改善する)

審査委員：主審査委員

石井 邦 明



副審査委員

藤井 順 逸



副審査委員

渡邊 哲



審査終了日：平成 26年 1月 8日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

さまざまな心疾患の終末像である心不全は、難治性であり死亡原因の上位を占めている。心不全の発症進展においては、神経液性因子の関与に加え、酸化ストレスの関与も重要であると考えられている。酸化ストレスは、細胞内の活性酸素種 (ROS) の増加により生じるが、ROS を除去する上で重要な役割を担っている抗酸化ストレス分子のひとつに Thioredoxin (Trx) がある。また、Trx を負に調節する因子として、Thioredoxin-interacting protein (TXNIP) が知られている。近年、TXNIP が E3 ユビキチンリガーゼである ITCH によってユビキチン化を受け、分解されることが報告された。

大瀧陽一郎君は ITCH が TXNIP の分解を介して Trx を活性化させ、それが ROS による心筋障害を抑制する可能性を考え、その点について詳細な検討を行った。

ラット培養心筋細胞において、Doxorubicin (Dox : ROS が心不全発症に重要な役割を果たす) および過酸化水素による刺激は、TXNIP の発現量を有意に低下させたが、これは防御的な反応と考えられた。ユビキチンとの共免疫沈降、siRNA による実験など、種々の検討の結果、ITCH がユビキチンプロテアソーム系を介して TXNIP の分解を調節していることが明らかになった。ITCH を過剰発現させた心筋細胞では、Dox、過酸化水素によるアポトーシスが抑制された。さらに、ITCH を心筋特異的に過剰発現させたトランスジェニックマウス (ITCH-Tg) を作成し、Dox の腹腔内投与を行ったところ、Dox による心筋障害 (酸化ストレス、アポトーシス) は、ITCH-Tg マウスにおいて有意に軽度であった。また、ITCH-Tg マウスにおいて、心筋萎縮の抑制、心収縮能の改善を認め、生存率も有意に高率であった。これらは、TXNIP の分解を介しているものと考えられた。

本研究は、心筋細胞において ITCH が TXNIP をユビキチン化し分解へと導くことによって、酸化ストレスによる障害を軽減させている可能性を初めて示したものである。基礎研究としての重要性に加え臨床的意義も高く、審査会は本研究が十分に学位に値するものと判定した。