

論文内容要旨

論文題目

Cardiac-specific overexpression of ITCH attenuates septic cardiomyopathy through the inhibition of NF κ B signaling pathway

(HECT型ユビキチン転移酵素 ITCH は NF κ B 経路を介する敗血症性心筋症の発症を抑制する)

責任講座： 内科学第一講座

氏名： 齋藤 悠司

【内容要旨】(1,200字以内)

【背景・目的】

医療の進歩にも関わらず、敗血症はいまだに世界的に死亡率の高い疾患である。敗血症における臓器障害の1つに敗血症性心筋症があり、予後不良の原因となっている。しかし、その発症機序や治療法は、確立されていない。敗血症性心筋症の発症に NF κ B 経路が重要な役割を果たすことが知られている。HECT型ユビキチン転移酵素 ITCH は免疫細胞において、TRAF6 や TAK1 と相互作用し、NF κ B 経路を介する炎症反応を抑制することが報告された。また ITCH は直接ユビキチンを付加するのみならず、CYLD や A20 といった脱ユビキチン化に係る酵素と協調し、標的蛋白質のユビキチン化を制御する作用も有する。しかし敗血症性心筋症における ITCH の役割は不明である。本研究の目的は、敗血症性心筋症の発症における心筋細胞の ITCH の役割を検討することである。

【方法・結果】

心臓特異的 ITCH 過剰発現 (ITCH-Tg) マウスと野生型 (WT) マウスに対して Lipopolysaccharide (LPS) の腹腔内投与を行い、敗血症性心筋症モデルを作成した。ITCH-Tg マウスは WT マウスに比べて、LPS 投与後の心機能障害が抑制され、生存率も有意に高率だった。免疫沈降法により ITCH と TRAF6 および TAK1 が相互作用を有することを *in vivo* および *in vitro* で確認した。ITCH-Tg マウスでは、WT マウスに比べ TRAF6 と TAK1 の発現が有意に低かった。LPS 腹腔内投与による NF κ B 活性化は ITCH-Tg マウスで有意に抑制された。また ITCH-Tg マウスではインターロイキン 6 (IL-6) および brain natriuretic peptide (BNP) の増加が抑制された。ITCH と CYLD および A20 が相互作用を有することを *in vitro* において免疫沈降法で確認した。H9C2 心筋細胞において LPS 刺激および腫瘍壊死因子 α (TNF- α) 刺激により ITCH の発現は経時的に減少した。H9C2 心筋細胞に ITCH を過剰発現させると TRAF6 と TAK1 の発現が有意に低下した。また ITCH 過剰発現により、TNF- α 刺激による NF κ B の活性化およびミトコンドリア機能障害が抑制された。反対に H9C2 心筋細胞において siRNA を用いて ITCH をノックダウンすると、LPS および TNF- α 刺激による NF κ B の活性化は増強した。ITCH 抑制により、LPS 刺激による IL-6 および BNP 上昇は増悪した。

【結論】

ITCH は心筋細胞において TRAF6 および TAK1 と相互作用し、NF κ B 経路を抑制しマウス敗血症性心筋症モデルにおいて心機能障害および生存率を改善することが示唆された。ITCH は敗血症性心筋症の治療のターゲットとなる可能性がある。

令和 4 年 1 月 14 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： 齋藤 悠司

論文題目： **Cardiac-specific overexpression of ITCH attenuates septic cardiomyopathy through the inhibition of NF κ B signaling pathway**

(HECT 型ユビキチン転移酵素 ITCH は NF κ B 経路を介する敗血症性心筋症の発症を抑制する)

審査委員： 主審査委員 小原 祐太郎



副審査委員 土谷 順彦



副審査委員 内田 徹郎



審査終了日： 令和 4 年 1 月 14 日

【 論文審査結果要旨 】

敗血症はいまだに世界的に死亡率が高い疾患であり、その臓器障害の一つとして予後不良な敗血症性心筋症がある。しかし、その発症機序が十分に解明されておらず、治療法を確立するためにも詳細な研究が求められている。一部の免疫細胞において、HECT 型ユビキチン転移酵素 ITCH が NF κ B シグナルを抑制して炎症反応を抑制することが知られているため、本研究では敗血症性心筋症における ITCH の役割を *in vitro* と *in vivo* の両面から明らかにすることを試みた。

心筋特異的に発現する ITCH-Tg マウスにリポポリサッカライド (LPS) を腹腔内投与して、敗血症性心筋症のモデルとした。その結果、ITCH-Tg マウスは野生型マウスと比較して、有意な生存率の上昇と心機能障害の抑制を示した。また心筋組織では LPS 受容体 (TLR4) の下流かつ NF κ B シグナル上流に位置する TRAF6 と TAK1 シグナル分子が ITCH と複合体を形成すること、ITCH の過剰発現によって両者の発現量が減少し、その結果として NF κ B シグナルが抑制され、炎症性サイトカインの IL-6 などの遺伝子発現が抑制された。一方で、H9C2 心筋モデル細胞に ITCH を一過性に過剰発現させると、やはり NF κ B シグナルが抑制され、ミトコンドリアの機能障害も軽減した。逆に ITCH を siRNA 法でノックダウンしたところ、NF κ B シグナルが亢進し、IL-6 の産生も増強された。

以上より、心筋細胞内では ITCH が TRAF6 や TAK1 の発現量をユビキチン化により制御することで NF κ B の機能を抑制し、炎症性サイトカイン類の遺伝子発現などを負に制御されること、その結果として ITCH が心筋細胞にとって保護的に機能する可能性が示唆された。

学位論文審査会においては、本研究が ITCH-NF κ B シグナルに関する敗血症性心筋症の発症機序を部分的に解明し、その治療薬開発に向けた有用な基礎的知見を含むものであることから、本研究が学位論文に値するとの結論を得た。