

# 論文内容要旨

## 論文題目

### Diacylglycerol kinase $\alpha$ exacerbates cardiac injury after ischemia/reperfusion in transgenic mouse hearts

(ジアシルグリセロールキナーゼ $\alpha$ は心筋虚血再灌流傷害を増悪する)

責任講座： 内科学第一講座

氏名： 佐々木 敏樹

【内容要旨】 (1, 200 字以内)

#### <背景>

2004年の厚生労働省の人口動態統計によると急性心筋梗塞により年間4万5千人が死亡し、全死亡の4.3%を占めている。経皮的冠動脈インターベンションが導入され、心筋梗塞発症後速やかに冠血流を再開させることで、急性期予後は著明に改善してきた。しかし、心筋傷害過程において、細胞虚血そのものによる代謝失調に加えて、急激な再灌流によって細胞傷害が促進される再灌流傷害が問題となっている。心筋虚血再灌流 (Ischemia/Reperfusion; I/R) において、Protein kinase C / extracellular-signal regulated kinase (PKC-ERK) 経路が心臓保護的に働くことが報告されている。ジアシルグリセロールキナーゼ; Diacylglycerol kinase (DGK) は細胞内のジアシルグリセロール; Diacylglycerol (DG) をリン酸化し、フォスファチジン酸に変換することで、DGの濃度を調節し、細胞内シグナル伝達を調節する。DGはPKCの強力なアクチベーターであり、その下流のシグナルを活性化させることが知られている。心臓にはDGK $\alpha$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ のアイソフォームの発現が確認されている。われわれは心筋特異的DGK $\zeta$ 過剰発現マウスを作製し、圧負荷による心筋肥大や心筋梗塞後の左室リモデリングを抑制することを報告している。

#### <目的方法>

心筋特異的に導入遺伝子を発現させる $\alpha$ -MHCプロモーターを用いて、DGK $\alpha$ を過剰発現させたトランスジェニックマウス (DGK $\alpha$ TG) を作製し、虚血再灌流傷害に対する反応を検討する。

#### <結果>

マウスを挿管し人工呼吸管理下に開胸し、冠動脈左前下行枝を一時的に閉塞させ、20分の虚血の後再灌流させた。再灌流24時間後にTTC染色を行い梗塞領域を定量し、心エコー、心臓カテーテル検査により再灌流後の心機能を評価した。DGK $\alpha$ TGマウスでは野生型マウス (WT) に比べ有意に梗塞領域が大きく、有意に心機能が低下していた (左室短縮率 LVFS:  $34.3 \pm 3.6\%$  vs.  $42.2 \pm 4.0\%$ ,  $P < 0.01$ . 左室収縮能 LV dp/dt:  $10021 \pm 1921$  vs.  $13618 \pm 1377$ ,  $P < 0.001$ )。WTでは虚血再灌流によってPKC、ERK1/2、p70S6キナーゼのリン酸化が亢進したが、DGK $\alpha$ TGにおいてこれらのリン酸化は減弱していた。またDGK $\alpha$ TGではWTに比べ、梗塞周囲の心筋細胞においてTUNEL陽性細胞の増加を認めた ( $16.74 \pm 9.5\%$  vs.  $8.9 \pm 2.0\%$ ,  $P < 0.05$ )。

#### <結論>

DGK $\alpha$ はPKC、ERK1/2、p70S6キナーゼの心筋保護作用を減弱することで、虚血再灌流傷害を増悪させることが示唆された。

平成 22 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： 佐々木 敏樹

論文題目： ジアシルグリセロールキナーゼ $\alpha$ は心筋虚血再灌流傷害を増悪する

論文審査委員： 主審査員

川前 金幸 (印)

副審査員

藤井 順逸 (印)

副審査員

富田 喜彦 (印)

審査終了日：平成 22 年 1 月 14 日

### 【論文審査結果要旨】

心筋虚血再灌流 (Ischemia/Reperfusion; I/R) において、Protein kinase C / extracellular-signal regulated kinase (PKC-ERK) 経路が心臓保護的に働くことが報告されている。ジアシルグリセロールキナーゼ; Diacylglycerol kinase (DGK) は細胞内のジアシルグリセロール; Diacylglycerol (DG) をリン酸化し、フォスファチジン酸に変換することで、DG の濃度を調節し、細胞内シグナル伝達を調節する。DG は PKC の強力なアクチベーターであり、その下流のシグナルを活性化させることが知られている。心臓には DGK $\alpha$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$  のアイソフォームの発現が確認されている。そして、申請者らは心筋特異的 DGK $\zeta$  過剰発現マウスを作製し、圧負荷による心筋肥大や心筋梗塞後の左室リモデリングを抑制することを報告している。

今回、心筋特異的に導入遺伝子を発現させる $\alpha$ MHC プロモーターを用いて、DGK $\alpha$ を過剰発現させたトランスジェニックマウス (DGK $\alpha$ TG) を作製し、虚血再灌流傷害に対する反応を検討した。マウスを挿管し人工呼吸管理下に開胸し、冠動脈左前下行枝を一時的に閉塞させ、20 分の虚血の後再灌流させた。再灌流 24 時間後に TTC 染色を行い梗塞領域を定量し、心エコー、心臓カテーテル検査により再灌流後の心機能を評価した。DGK $\alpha$ TG マウスでは野生型マウス (WT) に比べ有意に梗塞領域が大きく、有意に心機能が低下していた (左室短縮率 LVFS:  $34.3 \pm 3.6\%$  vs.  $42.2 \pm 4.0\%$ ,  $P < 0.01$ . 左室収縮能 LV dp/dt:  $10021 \pm 1921$  vs.  $13618 \pm 1377$ ,  $P < 0.001$ ). WT では虚血再灌流によって PKC、ERK1/2、p70S6 キナーゼのリン酸化が亢進したが、DGK $\alpha$ TG においてこれらのリン酸化は減弱していた。また DGK $\alpha$ TG では WT に比べ、梗塞周囲の心筋細胞において TUNEL 陽性細胞の増加を認めた ( $16.74 \pm 9.5\%$  vs.  $8.9 \pm 2.0\%$ ,  $P < 0.05$ )。

本論文は、DGK $\alpha$ は PKC、ERK1/2、p70S6 キナーゼの心筋保護作用を減弱することで、虚血再灌流傷害を増悪させることを示唆し、DGK $\alpha$ が心筋のリモデリングとは異なる作用があることを明らかにした斬新な論文であり、学位論文に値すると判断します。