

学位論文内容要旨

論文題目: Hsp70 overexpression sequesters AIF and reduces neonatal hypoxic/ischemic brain injury

邦題: Heat shock protein 70のAIF抑制効果
と新生仔マウス低酸素虚血障害に対する脳保護作用

指導(紹介)教授: 嘉山 孝正

申請者氏名: 松森 保彦

【内容要旨】

【目的】アポトーシスは脳虚血など様々なストレスによって引き起こされる組織障害のメカニズムの一つとして知られている。以前よりHeat Shock Protein 70 (Hsp70)は生体に虚血などのストレス刺激が加わった際に、分子シャペロンとして組織修復に関与したり、細胞を保護する作用があることが知られているが、近年その機序の一つとしてアポトーシスの抑制効果が報告されている。ストレス刺激によってミトコンドリアから種々のアポトーシス促進因子が放出されるが、最近in vitroの実験系においてHsp70がその因子の一つであるApoptosis Inducing Factor (AIF)の作用を抑制すると報告された。しかしこれまでのところ、生体内での作用についての検討および報告はなされていない。今回は、Hsp70は脳虚血障害に対し脳保護作用を持ち、AIFの作用を抑制しているとの仮説のもと、新生仔Hsp70オーバーエクスプレッショントランスジェニック (Tg) マウスとその野生株 (Wt) マウスを用いて、低酸素脳虚血障害後の脳障害の程度とアポトーシス関連蛋白群の発現について検討した。

【方法】生後7日目のHsp70 TgマウスとWtマウスに片側総頸動脈永久結紮と8%酸素負荷を30分間与え、その5日及び14日後にヘマトキシリンエオジン染色、myelin basic protein (MBP)免疫染色で組織学的に脳障害の程度を比較検討した。また低酸素脳虚血負荷後、6、12、24時間後に、cytochrome c、Second mitochondria-derived activator of caspase (Smac)/DIABLO及びAIFのアポトーシス関連蛋白群の発現についてウエスタンブロット法、免疫沈降法を用い評価した。

【成績】Wt群と比較しTg群では、低酸素脳虚血負荷に対する脳障害が有意に軽減されていた。また、両群において障害後14日後では5日後に比べ障害の程度が強かった。Tg群でミトコンドリアから細胞質へのcytochrome cの放出が有意に抑制されていたが、Smac/DIABLO、AIFの放出に差は見られなかった。Tg群において、AIFとHsp70との直接結合が増加し、さらにAIFの核内への取り込みが有意に減少していた。

【結論】今回の研究では新生仔Hsp70 Tgマウスにおいて、低酸素脳虚血に対する脳保護作用が認められた。そのメカニズムとして、ミトコンドリアから細胞質へのcytochrome cの放出を抑制すること、またHsp70がAIFに直接結合し核内への取り込みを減少させることでアポトーシスの抑制に関与していることが考えられた。本研究により、生体内においてもHsp70は脳虚血後にAIFの作用を減弱し、アポトーシスを抑制する一つの因子であることを初めて証明し得た。


平成 18 年 2 月 6 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： 松森 保彦

論文題目： Hsp 70 overexpression sequesters AIF and reduces neonatal hypoxic/ischemic brain injury.
(Heat shock protein 70 の AIF 抑制効果と新生仔マウス低酸素虚血障害に対する脳保護作用)

審査委員：主審査委員 加藤 丈夫 

副審査委員 藤井 順逸  

副審査委員 藤野 利孝 

審査終了日：平成 18 年 2 月 3 日

【 論文審査結果要旨 】

Heat Shock Protein 70 (Hsp70)は生体に虚血などのストレスが加わった際、分子シャペロンとして組織の修復に関与したり、細胞を保護する作用があることが知られている。その作用機序の一つとして、*in vitro*の実験系において、ストレスによってミトコンドリアから放出される Apoptosis Inducing Factor (AIF)の作用を Hsp70 が抑制することが報告されている。しかし、*in vivo*での作用についての検討・報告はこれまでにない。そこで松森保彦氏は、新生仔 Hsp70 オーバーエクスプレッショントランスジェニック (Tg) マウスとその野生株 (Wt) マウスを用いて、低酸素脳虚血障害後の脳障害の程度とアポトーシス関連蛋白群の発現について検討した。

その結果、以下の点が明らかとなった。

1. Wt マウスに比べ、新生仔 Hsp70 Tg マウスでは低酸素脳虚血による脳障害の程度が軽かった。
2. そのメカニズムとして、ミトコンドリアから細胞質への cytochrome c の放出を抑制すること、また Hsp70 が AIF に直接結合し核内への取り込みを減少させた。

本研究により松森保彦氏は、*in vivo*においても Hsp70 は脳虚血後に AIF の作用を減弱し、アポトーシスを抑制する因子の一つであることを明らかにした。

松森保彦氏の研究は医学的にきわめて重要な新知見を含んでおり、研究デザイン、実験方法、結果の解釈、考察等も適切である。また、種々の質問にも適切に応答した。したがって、審査委員会（主査、副査）は本研究が学位（医学博士）授与に充分値するものと判断した。

(1, 200字以内)