

論文内容要旨

論文題目

HECT型ユビキチン転移酵素 ITCH は Wnt/ β カテニン経路を介する病的肥大の進展を抑制する

責任講座： 内科学第一講座

氏名：後藤 準

【内容要旨】(1,200字以内)

【背景・目的】高齢人口の増加に伴い心不全患者が増加し、心不全パンデミックと呼ばれ世界的な問題となっている。治療法の進歩にも関わらず難治性で、新たな治療法の発見が待たれる。心不全は様々な器質的心疾患が原因となるが、予後不良因子として病的肥大（心筋リモデリング）の促進が挙げられ、治療ターゲットとされている。近年、心筋リモデリングにおける Wnt シグナルが注目を集めている。Dishevelled 蛋白 (Dvl1、Dvl2、Dvl3) は、Wnt/ β カテニン経路の主要なメディエーター蛋白である。HECT 型ユビキチン転移酵素 ITCH は、ユビキチン-プロテアソーム系を介したタンパク質分解に重要な役割を果たす酵素である。近年、ITCH がリン酸化 Dishevelled 蛋白をユビキチン-プロテアソーム系を介して分解することが細胞実験レベルで示された。本研究の目的は、病的肥大の進展における 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) マウスに対して胸部横行大動脈縮窄術 (Thoracic transverse aortic constriction: TAC) を行い、圧負荷心不全モデルを作成した。ITCH-Tg マウスは WT マウスに比べて TAC 手術後の肥大が抑制され、生存率は有意に高値であった。免疫沈降法で ITCH と Dishevelled 蛋白の相互作用を *in vivo* および *in vitro* で確認した。ITCH-Tg マウスでは、TAC 手術後の Wnt/ β カテニン経路の主要分子 (Dvl1、Dvl2、phospho-GSK3 β 、 β -catenin) の発現が WT マウスに比べて抑制されていた。また ITCH-Tg マウスでは、ユビキチン化した Dishevelled 蛋白が増加した。新生仔ラット心筋細胞における ITCH の蛋白発現レベルは、Wnt3a 刺激に応答して 12 時間で増加のピークを認め、24 時間で定常状態まで低下した。Wnt3a 刺激後には Dvl1、Dvl2、Dvl3、phospho-GSK3 β 、 β -catenin の発現レベルの増加が確認されたが、siRNA を用いて ITCH を抑制すると、さらなる増加を認め、心筋細胞のサイズも増加した。逆に ITCH の過剰発現は Dvl1、Dvl2、Dvl3、phospho-GSK3 β 、 β -catenin の発現レベルを有意に低下させた。

【結論】ITCH は不全心で増加した Dishevelled 蛋白をユビキチン-プロテアソーム系を介して分解し、Wnt/ β カテニン経路を介する病的肥大の進展を抑制した。ITCH は心不全患者の心筋リモデリングの予防および治療のターゲットとなる可能性が示唆された。

2021年 / 月 / 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：後藤 準

論文題目：HECT型ユビキチン転移酵素 ITCH は Wnt/ β カテニン経路を介する病的
的心肥大の進展を抑制する

審査委員：主審査委員 土谷 順孝 (印)
副審査委員 北中 千史 (印)
副審査委員 石井 邦明 (印)

審査終了日： 2021年 1月 6日

【 論文審査結果要旨 】

近年の高齢化人口の増加に伴い心不全患者が世界的に増加しており、治療法の進歩にもかかわらず日本においては死因の第二位となっている。心不全の原因疾患である虚血性心疾患や心臓弁膜症などに共通する病態として心筋リモデリング（病的な心肥大）がある。これを抑制する薬剤として β 遮断薬などの薬剤が心不全治療薬として使用されているが効果は限定的であり、心筋リモデリングに関する機構の解明と新たな治療薬の開発が望まれている。後藤氏は、心筋リモデリングにおける Wnt/ β -catenin 経路に関する Dishevelled (Dvl) を基質とする HECT 型ユビキチン転移酵素 ITCH に注目し、心筋細胞におけるその役割を解明することを目的として本研究を行った。

後藤氏はまず、心臓特異的 ITCH 過剰発現 (ITCH-Tg) マウスと野生型マウスに対して胸部横行大動脈縮小術 (TAC) を施行し、圧負荷心不全モデルを作製した。ITCH-Tg マウスでは、TAC 手術後の Wnt/ β -catenin シグナルの主要分子の発現の抑制とユビキチン化した Dvl タンパクが増加した。さらに ITCH-Tg では生理学的、形態学的に心機能の増悪と心筋肥大が抑制された。また、新生仔ラット心筋細胞では、ITCH のタンパク発現は Wnt3a 刺激により 12 時間後のピークののち定常状態まで低下し、Dvl、p-GSK3 β 、 β -catenin は増加した。これらのタンパクは siRNA で ITCH をノックダウンによりさらに増加し、同時に心筋細胞のサイズも増大した。一方、ラット心筋横紋筋由来 H9C2 細胞において ITCH を過剰発現させることにより、Dvl、p-GSK3 β 、 β -catenin が低下した。

本研究において後藤氏は、心不全の原因と目される機構の一つである Wnt/ β -catenin 経路の主要なシグナル分子である Dvl タンパクの増加が、ITCH を介したユビキチン-プロテアソーム系により抑制され、心筋リモデリングの進行を抑制することを、生理学的、形態学的さらに分子生物学的に解明した。本研究は適切な実験手法と結果の解釈、論理的考察がなされており、学位を授与する論文に値すると判断した。尚、論文において指摘された箇所の修正を行うことを条件とする。