

論文内容要旨

論文題目 ラット心筋虚血モデルにおける
ジアシルグリセロールキナーゼ ζ の細胞内局在に関する研究

責任講座：器官病態統御学講座

循環・呼吸・腎臓内科学分野

氏名： 秋山 英之

内容要旨

ジアシルグリセロールキナーゼ (diacylglycerol kinase, DGK) は細胞内セカンドメッセンジャーであるジアシルグリセロール (DG) をホスファチジン酸に代謝することにより細胞内の DG を量的に制御する。DG はプロテインキナーゼ C (protein kinase C, PKC) を活性化することから、DGK は PKC の活性調節因子として働くと考えられている。ラット心筋には DGK α 、DGK β 、DGK ϵ 、DGK ζ の 4 つのアイソザイムの発現が認められ、その中でも DGK ζ の発現量が最も多い。本研究では DGK ζ に注目し、その機能的役割を検討する目的で、左前下行枝を結紮することによりラット心筋虚血モデルを作製し DGK ζ の細胞内局在を免疫組織化学的手法を用いて検討した。DGK ζ 免疫反応は正常心筋では核内に検出された。この免疫反応は心筋虚血部位では極めて早期 (3 分) に核から消失した。虚血部位と非虚血部位では mRNA 発現量および DGK 酵素活性に差異は認められなかった。また 10 分間の虚血後、再灌流を 10 分行くと DGK ζ 免疫反応は虚血・再灌流部位において再び核内に認められるようになった。次に個体におけるこのような変化を検証する目的で培養心筋細胞を用いて検討を行った。DGK ζ 免疫反応は正常酸素 (21%O₂、5%CO₂、74%N₂) および通常のグルコース (4500mg/L) 含有メディウム条件下では個体と同様に培養心筋細胞の核内に認められた。この免疫反応は通常のグルコース含有メディウムにおいては低酸素 (1%O₂、5%CO₂、94%N₂) 下 5 分、10 分、20 分、60 分、120 分でも心筋細胞の核内に認められた。次に酸素とグルコースの両者を除去すると DGK ζ 免疫反応は早期 (5 分) に多数 (64%) の心筋細胞で細胞質に認められるようになった。その後、再び正常酸素および通常のグルコース含有メディウム条件下に戻すと DGK ζ 免疫反応は多く (82%) の心筋細胞において再び核内に検出された。本研究により DGK ζ は心筋虚血・再灌流により核と細胞質間を可逆的に移行することが明らかになった。また、この細胞内局在の変化はグルコース代謝と密接に関連することが示唆された。

平成 17 年 / 月 3 / 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：秋山英之

論文題目： ラット心筋虚血モデルにおけるジアシルグリセロールキナーゼ
 ζ の細胞内局在に関する研究

審査委員：主審査委員 花岡 一郎 

副審査委員 比中 千史

副審査委員 貞弘 光章

審査終了日：平成 17 年 1 月 12 日

【 論文審査結果要旨 】

ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) はジアシルグリセロール (DG) をリン酸化してフォスファチジン酸 (PA) に変換する酵素で、細胞内のDGの作用を制御し、さらに産生されたPAの作用を介してプロテインキナーゼ C 活性やリン脂質代謝などを調節していると考えられている。心筋ではDGK α , ϵ , ζ の3つのアイソザイムが発現しており、中でも ζ が最も多く発現している。しかし、心筋におけるDGKの役割の詳細は不明で、心筋虚血とDGKとの関係についてもいまだ明らかにされていない。そこで申請者はラットの心筋虚血、再灌流モデルを作製し、DGK ζ の心筋細胞内の局在について免疫組織化学的手法を用いて検討した。DGK ζ は正常心筋においては核内に局在しているが、心筋虚血開始後早期 (3分後) に核から消失し細胞質に移行し、さらに引き続き虚血10分後に再灌流を10分間行うことにより再度核内に戻ることが判明した。一方、心筋虚血前後でDGK ζ のRNA発現量および酵素活性は変化しなかった。次に、心筋虚血の影響の原因を知る目的で、ラット胎児心筋細胞を用いて、低酸素とグルコース無添加の条件下でのDGK ζ の細胞内局在について検討した。低酸素および正常グルコースメディウムで培養した心筋細胞ではDGK ζ は核内に局在したが、低酸素およびグルコース無添加の条件下では早期 (5分後) にDGK ζ の核から細胞質への移行が認められ、その後再度正常培養条件に戻すことにより、再びDGK ζ は主に核内に発現するようになった。以上の結果から、正常心筋では核内に発現しているDGK ζ が、虚血状態では細胞質に移行し、その原因として虚血に伴う低酸素および低グルコースが関与している可能性が示唆された。さらに心筋虚血によるDGK ζ の核内移行は可逆的で、再灌流によって再度核内にDGK ζ が戻った。この知見は、最近Aliらが報告した脳虚血再灌流モデルで遅延性細胞死をきたす海馬CA1ニューロンでの不可逆性のDGK ζ 核内移行とは異なることから、細胞死との関連性においても興味深い。本研究は、はじめて虚血心筋におけるDGK局在の変化を証明し、その原因として低酸素および低グルコースが関与している可能性を示唆した貴重な研究である。今後さらにこの現象の病態生理学的意義を知る上で、心筋虚血時のPKC活性などの細胞機能と心筋細胞内DGK局在の変化との関連性の解明が望まれる。本研究では、申請者は適切な研究方法を選択し、明確な実験結果を得るとともに、研究結果を正確に分析し、上記の意義ある新知見を得た。よって学位論文審査委員会は本論文が博士 (医学) を授与するに値するものと判定した。