

# 論文内容要旨

論文題目

## Deficiency of senescence maker protein 30 exacerbates cardiac injury after ischemia/reperfusion

(加齢指標タンパク 30 の欠損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： 門脇 心平

### 【内容要旨】(1,200 字以内)

〈背景〉急性心筋梗塞に対する経皮的冠動脈形成術は、早期の再灌流により心筋傷害を軽減し、生命予後を改善する。しかし、虚血再灌流に伴う心筋傷害が報告されており、更なる心筋保護の介入が必要である。Senescence maker protein (SMP)30 は加齢に伴い減少する蛋白で、抗アポトーシスおよび抗酸化作用を有する。

〈目的〉SMP30 が心筋虚血再灌流 (Ischemia/Reperfusion; I/R)による心筋傷害に与える影響を検討する。

〈方法〉ラット心筋細胞に SMP30 の低分子干渉 RNA 又はコントロール RNA を導入し、活性酸素刺激(過酸化水素刺激)を行った。SMP30 欠損マウス(SMP30KO)と野生型マウス(WT)に対して、人工呼吸器管理下に、冠動脈左前下行枝を一時的に閉塞させ、30 分の虚血後、再灌流させた。再灌流 24 時間後に心臓超音波検査で心機能評価を行った。さらに TTC 染色で梗塞領域の定量を、TUNEL 染色でアポトーシスの評価を行なった。

〈結果〉ラット心筋細胞に過酸化水素刺激を行うと Akt、extracellular-signal regulated kinase (ERK)、Glycogen synthase kinase 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ )のリン酸化は亢進した。SMP30 を抑制すると、Akt、GSK3 $\beta$  のリン酸化は減弱し、TUNEL 陽性細胞は増加した。心筋虚血再灌流時、Phosphoinositide 3-kinase (PI3K)、Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK)は心保護的に働く事が報告されている。PI3K 下流の Akt が活性化されると GSK3 $\beta$  をリン酸化し心保護的に働く。そのため、SMP30 抑制は Akt、GSK3 $\beta$  のリン酸化を減弱し、心筋傷害を増悪することが示唆された。次に SMP30KO マウスと WT マウスに心筋虚血再灌流刺激を行ったところ、WT マウスでは Akt、ERK、GSK3 $\beta$  のリン酸化は亢進していた。SMP30KO マウスでは WT マウスに比べて Akt、GSK3 $\beta$  のリン酸化は減弱していた。さらに、虚血再灌流後の心臓超音波検査による心機能評価では、SMP30KO マウスは WT マウスに比べ収縮能の低下を認めた。また、梗塞領域周囲の TUNEL 陽性細胞数は SMP30KO マウスで増加を認め、TTC 染色による心筋梗塞領域の定量では、梗塞領域の増大を認めた。

〈結論〉SMP30 は Akt、GSK3 $\beta$  のリン酸化を介して虚血再灌流傷害に保護的に働く事が示唆された。

平成27年1月9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：門脇 心平

論文題目： Deficiency of senescence marker protein 30 exacerbates cardiac injury after ischemia/reperfusion

(加齢指標タンパク 30 の欠損は心筋虚血再灌流傷害を増悪する)

審査委員：主審査委員

石井 邦明

副審査委員

久保 田 功

副審査委員

白石 王



審査終了日：平成 27年 1月 8日

### 【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

急性心筋梗塞後の早期再灌流は心筋傷害を軽減し、生命予後を改善するが、同時に虚血再灌流は心筋傷害を引き起こすことが知られている。そのため、適切な介入によって、この虚血再灌流傷害を軽減することが必要とされている。一方、今回の研究対象である senescence marker protein (SMP) 30 は、20 年ほど前に発見された、加齢に伴って減少する蛋白である。心臓を含む多くの臓器で発現しており、抗アポトーシス作用、抗酸化作用を有している。

門脇心平君は、SMP30 が組織保護的に働くこと、ならびに高齢の心筋梗塞患者のほうが、再灌流後の治療成績が悪いことに着目し、SMP30 の減少が心筋虚血再灌流傷害に与える影響について検討した。

ラット培養心筋細胞において、過酸化水素刺激は Akt, Erk1/2 およびそれらの下流の GSK3 $\beta$  のリン酸化を亢進した (GSK3 $\beta$  のリン酸化は虚血再灌流傷害に対して心保護的に働く)。同様の系で、siRNA による SMP30 のノックダウン後に過酸化水素刺激を行ったところ、Akt ならびに GSK3 $\beta$  のリン酸化の亢進は、その程度が減弱していた。また、SMP30 のノックダウンによって、アポトーシスを示す TUNEL 陽性細胞の数が増加した。次に、マウス個体を用いて、冠動脈左前下降枝の閉塞による 30 分間の虚血後に再灌流を行い、SMP30 ノックアウト (KO) マウスと野生型 (WT) との比較を行った。その結果、両者とも虚血再灌流によって Akt, Erk1/2, GSK3 $\beta$  のリン酸化の亢進が観察されたが、SMP30-KO マウスにおいては、Akt ならびに GSK3 $\beta$  のリン酸化亢進の程度が減弱していた。さらに、SMP30-KO マウスでは、WT と比べ、梗塞領域の増大および梗塞領域周囲の TUNEL 陽性細胞数の増加が認められた。また、心臓超音波検査による心機能評価において、SMP30-KO マウスの収縮能の低下が認められた。

本研究は、SMP30 の減少 (加齢に伴い起こる) が、心筋虚血再灌流傷害を悪化させることを初めて明らかにしたものである。基礎研究としての重要性に加え臨床的意義も高く、審査会は本研究が学位に値するものと判定した。