

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 中 岡 幹 彦

主論文 1 編

An alpha-adrenergic agonist protects hearts by inducing Akt1-mediated autophagy.
Biochemical and Biophysical Research Communications 456(1):250-6, 2015

審 査 結 果 の 要 旨

オートファジーは細胞内タンパク質の分解・リサイクルを担う生体の恒常性維持機構である。近年、重症心不全患者の心筋におけるオートファジーの存在が電子顕微鏡やタンパク質発現による研究から証明されている。しかし心不全におけるオートファジーの役割とその進展に関わる神経体液性因子の影響は十分には判っていない。そこで申請者は交感神経刺激によってもたらされる心不全の進展におけるオートファジーの役割とその細胞伝達経路について検討した。

まずラット新生仔培養心筋細胞に、オートファジーのマーカーである GFP-LC3 を遺伝子導入し、 α アドレナリン受容体作動薬の phenylephrine (以下 PE)、 β アドレナリン受容体作動薬の isoproterenol (以下 ISO) または norepinephrine (以下 NE) を投与しオートファゴソームの形成をみた。その結果、いずれの薬物もオートファジーを亢進させた。一方、ISO はアポトーシスを亢進、PE はこの ISO によるアポトーシスを抑制し、さらに autophagy-related 5(ATG5) 遺伝子のノックダウンによりオートファジーを抑制すると PE によるアポトーシス抑制が消失したことから、PE がオートファジーを亢進させ心保護的に働いていることが示唆された。

シグナル経路について PI3K-Akt (以下 Akt) と MEK-1/2-ERK-1/2 (以下 ERK) を調べたところ、PE によるアポトーシス抑制は Akt, ERK のいずれを抑制しても解除されたが、PE によるオートファジーは Akt 抑制によってのみ解除された。これより PE によるオートファジーには主に Akt が関与していることが示された。さらに Akt アイソフォームについて RNAi 法により精査したところ、オートファジーの指標である LC3-II/I 比は Akt1 の抑制によってのみ抑制をみた。一般に mTOR 経路はオートファジーを抑制するが、薬物にて mTOR 経路を抑制すると LC3-II 発現が上昇したことから、心筋細胞でも mTOR 経路によるオートファジーが存在する一方で、Akt1 の抑制により mTOR 経路の活性は変わらず、PE によるオートファジー亢進は mTOR 非依存性であることが示された。

申請者はさらに in vivo でもアドレナリン刺激によるオートファジーと心不全との関係を調べた。雄 8 週齢マウスを用いて PE, ISO, NE のいずれかを 4 週間腹腔内投与した 3 群を比較した。ISO 群、NE 群の心筋組織にはマッソン・トリクローム染色上有意な線維化を、心エコーでは ISO 群で不全心へ移行する初期相の心肥大を示し、NE 群では心機能低下、心室壁の菲薄化を認めたのに対し、PE 群では心機能は維持され線維化も認めなかった。GFP-LC3 トランスジェニックマウスを用いてオートファジーの発現を検討したところ、PE 群のみがオートファゴソームの形成を有意に増加させ、Western blot 法でも PE 群でのみ LC3-II/I 比が増大した。PE の投与が心不全の兆候なくオートファジーを亢進させたことより、PE によるオートファジーの誘導が心保護的に働くことが示唆される。

以上が本論文の要旨であるが、アドレナリン刺激においてオートファジーは心保護的に働き、それが mTOR 非依存性の経路であったことを解明した点で医学上価値のある研究と認める。

平成 28 年 4 月 21 日

審査委員 教授 田 中 秀 央 ㊞

審査委員 教授 夜 久 均 ㊞

審査委員 教授 佐 和 貞 治 ㊞