

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

論 文 提 出 者 氏 名	論 文 審 査 担 当 者
大 塚 宏 治	主 査 教 授 勝 間 田 敬 弘 副 査 教 授 浮 村 聡 副 査 教 授 出 口 寛 文 副 査 教 授 森 田 大
<p>主論文題名</p> <p>Enhanced expression of the ubiquitin-proteasome system in the myocardium from patients with dilated cardiomyopathy referred for left ventriculoplasty: An immunohistochemical study with special reference to oxidative stress (左室形成術を施行された拡張型心筋症患者心筋におけるユビキチン-プロテアソーム系の発現亢進：特に酸化ストレスに関する免疫組織化学的研究)</p>	
学 位 論 文 内 容 の 要 旨	
<p>《背景と目的》</p> <p>ユビキチン-プロテアソーム系は細胞の恒常性維持に重要なタンパク質分解系の一つであり、細胞内のシグナル伝達・ストレス応答・免疫反応などに関連する短寿命タンパク質や異常タンパク質がその基質となる。一方、酸化ストレスは多くの疾患の病因・病態に関与しており、ストレスのかかった細胞のタンパク質は折りたたみ不全を起こす。この障害されたタンパク質は機能異常や細胞毒性を持ち、ユビキチン-プロテアソーム系の標的タンパク質となる。また、不全心では酸化ストレスの亢進が認められ、心疾患における病因や増悪因子とされている。近年、拡張型心筋症（DCM）心筋においてユビキチン-プロテアソーム系の亢進が報告されている。</p> <p>そこで、DCM による末期心不全のため左室形成術で切除した心筋を用いてユビキチン-プロテアソーム系の発現と酸化ストレスの関連について免疫組織学的検討を行なった。</p>	

## 《対象と方法》

末期心不全に対する治療の目的で左室形成術を施行された DCM 26 症例(男 23 名、女 3 名、平均年齢 49.0 歳)の切除心筋を対象とした。対照には心疾患の無い剖検心 10 例を用いた。ユビキチンおよびプロテアソームに対する抗体を用いた免疫組織化学的染色を行い、発現の程度と局在を検討した。また、酸化ストレスのマーカーとして諸種抗体[抗 Cu-Zn superoxide dismutase-1 (SOD-1) 抗体、抗 acrolein (ACR) 抗体、抗 hydroxyhexenal (HHE) 抗体、抗 hydroxynonenal (HNE) 抗体、抗 methylglyoxal (MG) 抗体]を用いて免疫染色を行い、その発現と局在を検討した。また、ユビキチンと酸化ストレスマーカー (HNE, ACR) の蛍光二重染色を行ない、両者の関連を検討した。さらに、ユビキチンの発現(陽性面積率)と血漿 BNP 値を比較検討した。

## 《結 果》

正常対照の心筋においては、ユビキチンおよびプロテアソームの発現はともに軽微であった。DCM では心筋細胞に空胞形成や筋原線維の疎少化、核の変形などの変性所見を認めた。これらの変性心筋細胞において、ユビキチンは主として核近傍や細胞質内に小顆粒から中顆粒の集簇として観察された。心筋細胞全体にユビキチン陽性顆粒がみられる心筋細胞は変性が高度であった。ユビキチン陽性面積率およびプロテアソーム陽性面積率は、正常心筋と比較して DCM 心筋で高かった。さらに、各種酸化ストレスマーカーも DCM 心筋で発現が高度であった。ユビキチンと酸化ストレスマーカー (HNE, ACR) の蛍光二重染色において、ユビキチン陽性顆粒の局在は HNE および ACR の各々と一致した。なお、DCM 患者心筋におけるユビキチンの発現の程度は血漿 BNP 値と正相関した。

## 《考 察》

近年、DCMにおける不全心筋において、種々のストレスが増加し、細胞内のシグナル伝達など細胞内の恒常性に悪影響を及ぼすことが明らかとなっている。恒常性の破綻は心筋細胞の変性や細胞死に関与し、心不全の増悪因子となる。今回、DCM患者心筋の心筋細胞変性に伴ってユビキチンおよびプロテアソームの高度発現が認められた。また、酸化ストレスマーカーの発現もDCM心筋において亢進し、細胞内顆粒状構造物において両者が同時に発現していることが明らかになった。このことより、DCM患者において、タンパク質が酸化ストレスなどにより折りたたみ不全などの構造異常を来し、凝集体を作り、ユビキチン-プロテアソーム系がこの凝集体を処理するために亢進している可能性が考えられる。また、著しく変性した心細胞質全体にユビキチン陽性顆粒を認める心筋細胞は、この処理機能が破綻し、細胞死へ向かう可能性が示唆される。しかし、これらの現象がユビキチン-プロテアソーム系の機能不全かユビキチンで標識された異常タンパク質の過剰産生か、またその両者によるものかを確定するためにはさらなる検討が必要である。

DCM患者の心筋細胞のユビキチン発現程度が血漿BNP値と正相関をする事から、ユビキチン-プロテアソーム系の亢進が心不全の重症度を反映している可能性がある。

## 《結 論》

DCMによる末期心不全患者心筋において、ユビキチン-プロテアソーム系と酸化ストレスマーカーの共発現が認められた。また、ユビキチン-プロテアソーム系の亢進と心不全の重症度との関連が示唆された。

## 審査結果の要旨および担当者

報告番号	乙第	号	氏名	大塚宏治
論文審査担当者			主査教授 勝間田 敬弘	
			副査教授 浮村 聡	
			副査教授 出口 寛文	
			副査教授 森田 大	
主論文題名				
<p>Enhanced expression of the ubiquitin-proteasome system in the myocardium from patients with dilated cardiomyopathy referred for left ventriculoplasty: An immunohistochemical study with special reference to oxidative stress</p> <p>(左室形成術を施行された拡張型心筋症患者心筋におけるユビキチン-プロテアソーム系の発現亢進：特に酸化ストレスに関する免疫組織化学的研究)</p>				
論文審査結果の要旨				
<p>近年、拡張型心筋症（DCM）患者心筋においてユビキチン-プロテアソーム系の亢進が報告されているが、ユビキチンやプロテアソームの局在は明らかにされていない。申請者は、DCM で末期心不全のため左室形成術で切除した心筋を用いてユビキチン-プロテアソーム系の発現と酸化ストレスについて免疫組織学的検討を行っている。その結果、本症患者心筋ではユビキチン-プロテアソーム系と酸化ストレスマーカーともに発現が亢進し、心筋細胞内の顆粒構造として認められた。さらに、蛍光二重染色によりユビキチン陽性顆粒と酸化ストレスマーカーの局在の一致を示した。以上より、DCM における不全心筋では酸化ストレスによる障害を受けたタンパク質が、凝集体を作り、ユビキチン-プロテアソーム系がこれを処理するために亢進している可能性を示唆した。また、ユビキチンの発現と血漿 BNP 値が正相関することから、ユビキチン-プロテアソーム系の亢進は心不全の重症度を反映すると考察している。</p>				

本研究は、DCM 心筋におけるユビキチン-プロテアソーム系亢進およびユビキチン-プロテアソーム系と酸化ストレスマーカーの共発現を明らかにしたものでDCMの病態に重要な知見を与えるものである。

以上より、本論文は本学学位規程第 3 条第 2 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

（主論文公表誌）

Heart and Vessels 25 (6): 474-484, 2010