

学位授与番号：甲 968 号

氏 名：井上 天宏

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 26 年 4 月 9 日

学位論文名：

変異トロポニン T による拡張型心筋症モデルマウスの Frank-Starling 機構減弱
の分子メカニズム

主論文名：

Depressed Frank-Starling mechanism in the left ventricular muscle of the
knock-in mouse model of dilated cardiomyopathy with troponin T deletion
mutation Δ K210.

(変異トロポニン T による拡張型心筋症モデルマウスの Frank-Starling 機構減
弱の分子メカニズム)

学位審査委員長：教授 吉村道博

学位審査委員：教授 竹森重 教授 桑野和善

論文要旨

論文提出者名	井上 天 宏	指導教授名：橋本 和弘
<p>Depressed Frank-Starling mechanism in the left ventricular muscle of the knock-in mouse model of dilated cardiomyopathy with troponin T deletion mutation $\Delta K210$ (変異トロポニンTによる拡張型心筋症モデルマウスの Frank-Starling 機構減弱の分子メカニズム) Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 2013; 63: 69-78.</p> <p>【背景】心拍出量は左室拡張末期容量に依存するとした Frank-Starling 機構は、不全心筋では減弱しているとされるが、その減弱の機序は明らかにされていない。</p> <p>【方法】不全心筋の材料として欠失変異トロポニン(Tn)Tによる拡張型心筋症(DCM)マウスを用い、同系の野生型(WT)マウスを対照とした。左室乳頭筋から切離した心筋ファイバーを除膜処理(スキンド)し、サルコメア長を$1.9\sim 2.2\mu\text{m}$で変化させ、最大張力、Ca^{2+}感受性、および Frank-Starling 機構の基礎となる筋長効果を測定した。また両群のスキンドファイバーを骨格筋型 Tn への入替処理、あるいはプロテインキナーゼ A(PKA)処理を行い、同様の実験を行った。筋長効果に影響を及ぼす細いフィラメントの協同性やサルコメア格子間隔に関しては、クロスブリッジ再形成速度(k_r)とタイチン(コネクチン)由来静止張力を測定した。さらに無機リン酸、MgADP を添加した Ca^{2+} 溶液を用い、細いフィラメントの協同性の変化による両群のスキンドファイバーの特性変化を検討した。サルコメア構成タンパク質のリン酸化レベルやタイチンのアイソフォーム変化については SDS-PAGE 法を用いて比較した。</p> <p>【結果】Ca^{2+}感受性および筋長効果は DCM 群で有意に低下しており、PKA 処理後も DCM 群で低下していたが、Tn 入替によりこれらは両群でほぼ同等となった。k_r も同様に DCM 群で有意に低下しており、PKA 処理後も低下していたが、Tn 入替により両群で同等となった。サルコメア格子間隔に影響するタイチンのアイソフォーム変化やタイチン由来静止張力は両群間で有意な変化を認めなかった。MgADP 添加により細いフィラメントの協同性を上昇させると、WT 群では濃度依存的に筋長効果が減弱したが、DCM 群では細いフィラメントの協同性を適度に上昇させることで筋長効果の改善が認められた。</p> <p>【結論】欠失変異トロポニン T による拡張型心筋症マウスの筋長効果の減弱は、細いフィラメントの協同性の低下に基づいている。</p>		

論文審査の結果の要旨

井上天宏氏提出の学位申請論文は、主論文 1 編 (J Mol Cell Cardiol 2013;63C:69-78)、参考論文 2 編よりなり、タイトルは、Depressed Frank-Starling mechanism in the left ventricular muscle of the knock-in mouse model of dilated cardiomyopathy with troponin T deletion mutation $\Delta K210$ (変異トロポニン T による拡張型心筋症モデルマウスの Frank-Starling 機構減弱の分子メカニズム) であり、橋本和弘教授の指導で作成された。

Frank-Starling 機構は不全心筋では減弱しているとされるが、その減弱の機序は明らかにされていない。それを検討する為に、欠失変異トロポニン(Tn)T による拡張型心筋症(DCM)マウスと同系の野生型(WT)マウスを用いて検討した。左室乳頭筋から切離した心筋ファイバーを除膜処理(スキンド)して、サルコメア長を $1.9\sim 2.2\mu\text{m}$ で変化させ、最大張力、 Ca^{2+} 感受性、および Frank-Starling 機構の基礎となる筋長効果を測定した。また両群のスキンドファイバーを骨格筋型 Tn への入替処理、あるいはプロテインキナーゼ A(PKA)処理を行い、同様の実験を行った。筋長効果に影響を及ぼす細いフィラメントの協同性やサルコメア格子間隔に関しては、クロスブリッジ再形成速度(ktr)とタイチン(コネクチン)由来静止張力を測定した。さらに無機リン酸、MgADP を添加した Ca^{2+} 溶液を用い、細いフィラメントの協同性の変化による両群のスキンドファイバーの特性変化を検討した。サルコメア構成タンパク質のリン酸化レベルやタイチンのアイソフォーム変化については SDS-PAGE 法を用いて比較した。その結果、 Ca^{2+} 感受性および筋長効果は DCM 群で有意に低下しており、PKA 処理後も DCM 群で低下していたが、Tn 入替によりこれらは両群でほぼ同等となった。ktr も同様に DCM 群で有意に低下しており、PKA 処理後も低下していたが、Tn 入替により両群で同等となった。サルコメア格子間隔に影響するタイチンのアイソフォーム変化やタイチン由来静止張力は両群間で有意な変化を認めなかった。MgADP 添加により細いフィラメントの協同性を上昇させると、WT 群では濃度依存的に筋長効果が減弱したが、DCM 群では細いフィラメントの協同性を適度に上昇させることで筋長効果の改善が認められた。結論として、欠失変異トロポニン T による拡張型心筋症マウスの筋長効果の減弱は、細いフィラメントの協同性の低下に基づいていることが示された。

平成 26 年 3 月 28 日、竹森 重教授、桑野和善教授のご臨席の下、口頭試問を実施した。席上、トロポニン T の変異でミオシン重鎖のアイソフォーム構成が変化するのはなぜか、ミオシン重鎖のアイソフォームを揃えた標本をトロポニン交換操作で行わないのはなぜか、変異心筋での Ca^{2+} 感受性がそもそも違うのはなぜか、このマウスの死因は心不全か、ヒトとマウスの DCM の組織像の違いはないか、薬剤の検討は行ったかなど数多くの質問がなされたが、井上氏は適確に解答した。慎重審議の結果、本論文は、学位申請論文として十分な価値あるものと判断された。