

[別紙 2]

審査結果の要旨

氏名 畑 中 一 仁

本研究は心筋細胞間の電氣的、代謝的な共役に関与するギャップ結合の構成タンパクであるコネキシン 43 の心筋虚血下における動態を明らかにするため、ラット心筋梗塞モデルを用いてその解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 非虚血心筋におけるコネキシン 43 は大部分が細胞分画の膜分画にリン酸化型として存在し、免疫蛍光染色法による組織像では心筋細胞の介在板に存在することが確認された。
2. 梗塞 1 時間では膜分画でのリン酸化型コネキシン 43 の減少と脱リン酸化型コネキシン 43 の増加が認められ、さらに両者の梗塞の進行に従った経時的な減少も確認された。組織像では梗塞 1 時間で脱リン酸化型陽性像が介在板で認められたが、梗塞 3 時間ではその染色性は低下した。また経時的に心筋全体が弱くびまん性に染色された。細胞質分画では明らかなプロット像は認められなかったが、そのドットプロットでは経時的なシグナルの増強が認められた。以上より、早期心筋梗塞におけるコネキシン 43 の減少および脱リン酸化、また細胞質におけるコネキシン 43 分解産物の増加が示された。なお全コネキシンの減少は全量の約 15%であり、梗塞 1 時間では大部分が脱リン酸化されることが確認された。
3. カルシニューリン阻害剤であるサイクロスポリン A によりコネキシン 43 の

梗塞 1 時間における脱リン酸化が抑制された。よって心筋梗塞早期における脱リン酸化型コネキシン 43 の増加にカルシニューリンによる脱リン酸化作用が関与することが示された。

4. ライソゾーム阻害剤 E64c およびプロテアソーム阻害剤 PSI により梗塞 1 時間におけるリン酸化型コネキシン 43 の減少が阻害された。また細胞質分画のドットプロットでは非虚血群で E64c および PSI 投与によるドットシグナル増強を認め、梗塞 1 時間ではこれらの阻害剤投与によりその増強が抑制された。よって早期心筋梗塞におけるリン酸化型コネキシン 43 の減少にはライソゾームおよびプロテアソームが関与していることが示された。
5. Ischemic Preconditioning (IP) により梗塞 1 時間でのリン酸化型コネキシン 43 の減少が有意に抑制されたが、3 時間ではその減少抑制は認められなかった。また IP によるリン酸化型コネキシン 43 の減少抑制がプロテインキナーゼ C (PKC) の阻害剤であるケレレスリンにより阻害されたことから、IP によるリン酸化型コネキシン 43 の減少抑制には PKC が関与すると考えられた。
6. コネキシン 43 の mRNA は梗塞 1 時間では対照群とほぼ同レベルであったが、3 時間後には著減した。よって梗塞初期にはコネキシン 43 の脱リン酸化と蛋白分解が起こり、その後、転写活性低下および mRNA の不安定化が生じ、コネキシン 43 の合成に影響を及ぼす可能性が示された。

以上、本論文はラット心筋梗塞モデルにおける解析から、早期心筋梗塞におけるカルシニューリンによるコネキシン 43 の脱リン酸化、プロテアソーム及びライソゾームによるコネキシン 43 分解、虚血 3 時間でのコネキシン 43 遺伝子発

現減少、さらに IP により PKC 依存性にコネキシン 43 の減少が抑制されることを明らかにした。本研究はこれまで不明な点が多かった心筋虚血下でのコネキシン 43 の動態の解明、ならびに法医学実務上診断が困難である心臓性突然死症例の診断に新たな指標を確立するための基盤となる重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。