

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 奈良岡 準

ヒト成長ホルモン(GH)は様々な生理機能を有しており、バイオ医薬品として既に成長ホルモン分泌不全の患者への補充療法として用いられている。また近年様々な生理機能を利用して慢性心疾患への適応などが報告されている。一方では GH 分泌異常患者において心血管系に異常が多いとの報告があり、その作用機構は不明な点が多い。しかし通常のマウスへの GH の長期投与は中和抗体などの影響により、慢性的な影響を正確に評価するのは困難である。本研究は、GH の持続投与による慢性的な影響を知る目的で、GH ならびマーカー遺伝子の EGFP を恒常的に発現する CAG/EGFP-mWAP/hGH トランスジェニックマウス(以後、GH-Tg マウスと略称)を用いて行ったものである。

第 1 章では、GH-Tg マウスおよび対照マウスから、8、12 および 16 週齢時に血漿を採取し、ヒト GH および各種の心リスクバイオマーカーを測定した。また各種臓器の重量測定ならびに組織病理学的な解析を行った。中性脂肪濃度、LDL コレステロール濃度および過酸化脂質濃度において、GH-Tg の雄で増加傾向が認められたのに対して、GH-Tg の雌で減少していた。肝臓は、脂肪滴と思われる空胞化が GH-Tg 雄で早期に認められた。心臓は GH-Tg の雄で体重比臓器重量が加齢に伴い増加し、心筋の変性壊死が認められた。このような雄での異常の原因として、雄に特有な GH のパルス様分泌パターンの消失が影響したものと考えられた。

第 2 章では、36 週齢の GH-Tg マウスを用いて慢性 GH 暴露の心臓への影響を検討した。まず心臓特異的かつ高感度なバイオマーカーを検索するために、心臓型脂肪酸結合タンパク(H-FABP)のバイオマーカーとしての有用性を検討した。GH-Tg マウスの血漿を 8、12、16、36 週齢に採取し、各種バイオマーカーの活性ならびに濃度を測定し、組織変化を電子顕微鏡で観察した。36 週では GH-Tg マウスの心筋で線維化が認められ、またミトコンドリアの形態異常が認められた。AST 活性、LDH 活性および CK 活性については 36 週から増加したが、H-FABP は 12 週時に軽微な組織変化に伴い増加したことから、H-FABP は進行性の慢性心筋傷害を予測するマーカーとして有用であることが示唆された。

GH の心臓への影響については、脂肪酸代謝の異常が示唆されているが、その詳細なメカニズムは不明である。そこで、第 3 章では、脂肪酸代謝、特に心筋細胞への脂肪酸の取込に關与する脂肪酸輸送タンパク質群(FATPs)と hGH の関係を検討した。その結果、CD36 は血管周囲に、脂肪酸輸送タンパク質 1 (FATP1) はび漫性に、脂肪酸輸送タンパク質 4 (FATP4) はアクチン部位に存在していた。PI3 キナーゼ活性および AMP 活性化タンパク質キナーゼ活性の阻害剤を投与した実験から、FATP4 の発現は PI3 キナーゼにより制御されていることが判明した。つぎに GH-Tg マウスにおける FATPs の遺伝子発現について調べたところ、FATP4 のみに増加が認められた。また GH およびインスリン受容体に関しては 36 週齢で著しく低下していた。一方、FATP4 は GH-Tg マウスで、対照

の老齡よりも低いレベルを示し、膜移行の制御に異常が認められた。そこで、FATPs の制御機構に關係するインスリンシグナルについて解析を行ったところ、GH-Tg マウスでは外来性インスリン投与によるインスリン受容体およびインスリン受容体基質-1 のチロシンリン酸化の低下が認められた。またリン酸化チロシンと PI3 キナーゼ p85 subunit の結合を検討した結果、インスリン投与で、GH-Tg マウスは対照より減少していた。この結果から GH の慢性投与により、インスリンシグナル伝達が阻害された結果、脂肪酸輸送タンパク質の細胞膜上への移行に異常があったと考えられた。

以上、本研究から慢性 GH 暴露によってインスリンシグナル伝達が阻害され、心筋細胞の細胞膜上の脂肪酸輸送タンパク質群が減少し、脂肪酸取込が低下した結果、慢性的なエネルギー不足を引き起こし、変性壊死が生じると考えられた。さらに血中の H-FABP が進行性心筋傷害における特異的かつ高感度なバイオマーカーとして有用であることが明らかになった。以上本研究の成果は、学術上貢献するところが少なくない。

よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。