

## [課程—2]

### 審査の結果の要旨

氏名 鈴木美穂

本研究は糖尿病の病態における、心臓・骨格筋におけるインスリンシグナル、特に Akt1 と Akt2 の役割を明らかにするため、心筋・骨格筋特異的 Akt1/Akt2 ダブル欠損マウスを用いて解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 作成した心筋・骨格筋特異的 Akt1/Akt2 ダブル欠損マウスの心臓および骨格筋において、定量的 RT-PCR を行うと、Akt1 および Akt2 は著明に低下しており、またウェスタンブロットを行うと Akt の蛋白量は著明に低下していた。またインスリン刺激を行ってのウェスタンブロットを行うと、心筋・骨格筋特異的 Akt1/Akt2 ダブル欠損マウスの心臓・骨格筋においては、Akt の下流にある GSK3 $\beta$  のリン酸化が生じなかった。これらより、心筋・骨格筋特異的 Akt1/Akt2 ダブル欠損マウスでは心筋・骨格筋において Akt1 および Akt2 の発現が低下し、インスリンシグナルが Akt のレベルで遮断されていることが示された。

2. 心筋・骨格筋特異的 Akt1/Akt2 ダブル欠損マウスは生後 25 日から 37 日の間に全ての個体が死亡することが観察された。

3. 心臓の超音波検査を行うと、心筋・骨格筋特異的 Akt1/Akt2 ダブル欠損マウスでは 2 週齢より心機能低下の傾向が見られ、死亡直前では著明な心機能低下を認めていた。また、定量的 RT-PCR では、心臓における心不全マーカーの発現は 2 週齢より増加し、4 週齢でさらに著明に増加していた。これらより、心筋・骨格筋特異的 Akt1/Akt2 ダブル欠損マウスは心不全のために死亡したことが示された。

4. 心臓の TUNEL 染色を行うと、心筋・骨格筋特異的 Akt1/Akt2 ダブル欠損マウスではアポトーシスの亢進が認められており、心筋・骨格筋特異的 Akt1/Akt2 ダブル欠損マウスの死因に、心臓での Akt1 および Akt2 の欠損による心筋細胞でのアポトーシスの亢進が関与している可能性が示された。

5. 心臓の定量的 RT-PCR を行うと、心筋・骨格筋特異的 Akt1/Akt2 ダブル欠損マウスでは脂肪酸 $\beta$ 酸化・電子伝達系に関連する遺伝子の発現の多くが 2 週齢の時点から低下し、4 週齢においてはより著明に低下していた。心臓のエネルギー

一需要は高く、ミトコンドリアにおける脂肪酸 $\beta$ 酸化・電子伝達系の障害は細胞に重篤な影響を与えると考えられ、心筋・骨格筋特異的 Akt1/Akt2 ダブル欠損マウスの死因のメカニズムの一つに、これらの遺伝子の発現の低下が関係している可能性が示された。

以上、本論文は、心臓において Akt1 および Akt2 が非常に重要な役割を果たし、個体の生存に不可欠であること、特に Akt1 および Akt2 は、細胞内でのエネルギー産生に重要な役割を果たす脂肪酸 $\beta$ 酸化・電子伝達系に関連する遺伝子の発現の制御を行っていること、を明らかにした。本研究は、心臓におけるインスリンシグナルの低下が原因の一つと考えられている糖尿病性心筋症の病態の解明、治療薬の解明に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する。