

審査の結果の要旨

氏名 鈴木 健樹

本研究は、ヒトの心不全時に認められるミオシンアイソフォーム変化の重要性および $\alpha$ -ミオシン重鎖過剰ウサギが頻拍による心筋症に対して防御的であった知見の基となる、筋フィラメントレベルでのメカニズムを明らかにするため、筋フィラメント機能及びアクチンとミオシンの架橋構造に与える影響を、遺伝子過剰発現ウサギを用いて生理学的に解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. 40%  $\alpha$ -ミオシン重鎖 (MHC) を発現したウサギ (TG40) 、及び 15%  $\alpha$ -MHC を発現したウサギ (TG15) においては、それぞれのコントロール (NTG40, NTG15) に比べ筋ミオフィラメントにおける張力及びカルシウムに対する感受性において有意さは認めなかった。
2. Force-clamp technique においては、TG40 は NTG40 に対して有意に速度、及び力が大きかった。post hoc 解析においては、0.3-0.7 [T/T<sub>max</sub>]において TG40 は速度、力共に大きかった。一方、TG15 と NTG15 の間の比較においては、群間に差はあるものの、post hoc 解析においては有意に異なる点は認めなかった。
3. 筋ストリップに極微小な sine curve をあて、それに対する筋ストリップの反応を見る、Length perturbation analysis ('sinusoidal analysis') においては、まず、「complex modulus」が最低になる frequency、'dip frequency'が TG40 において有意に上昇していた ( $0.70 \pm 0.04$  Hz vs  $0.39 \pm 0.09$ ,  $P < 0.01$ )。TG15/NTG15 においては、dip frequency においては有意さを認めなかった。
4. 続いて、Complex modulus を elastic modulus, viscous modulus に分けて評価した。Elastic modulus においては、TG40 の方が NTG40 に比べ、0.9 Hz ~ 3.8 Hz において elastic modulus の低下が認められた。Viscous modulus においては、0.3 Hz ~ 1.2 Hz において、TG40 の方が NTG40 に比べて有意に低くなっていた。

5. Complex modulus を式、  $Y(\omega) = A(i\omega)^k - B \frac{i\omega}{i\omega + 2\pi b} + C \frac{i\omega}{i\omega + 2\pi c}$

に当てはめ、それぞれのパラメーターを比較した。最終項は C プロセスと呼ばれ、仕事の吸収プロセスに関連していると考えられている。その係数である 'c' が TG40 において上昇していた ( $1.77 \pm 0.20$  vs  $0.99 \pm 0.10$ ,  $P < 0.01$ )。このパラメーターから導かれる、attachment time ( $t_{on} = 1/(2\pi c)$ ) は TG40 においては  $102.3 \pm 0.20$  ms であり、有意に NTG40 における  $t_{on}$  ( $175.7 \pm 19.7$  ms) より短縮していた。一方、TG15/NTG15 においてはそれぞれのパラメーターおよび  $t_{on}$  において有意な差を認めなかった。

6. 以上の結果より、TG40 は NTG40 に比べて速度、力の産生が大きく、sinusoidal analysis においては、 $t_{on}$  も短く、クロスブリッジサイクリングもより早くなっており、これらが頻脈による心筋症に対して防御的に作用している筋フィラメントにおけるメカニズムと考えられる。

7. TG40/NTG40 において認められた差と TG15/NTG15 において認められたわずかな差からヒトにおけるミオシンアイソフォーム変化の重要性に関して考察した。平常時 5-7% 存在している  $\alpha$ -MHC がヒトの心不全の状況においては検出不能なレベルまで低下する事が示されている。この、5-7% の  $\alpha$ -MHC は、筋フィラメントレベルにおいては、あるとしても極めて小さな変化のみ産生するのでは、と推察される。

以上、本論文は遺伝子過剰発現ウサギを用いて、異なるミオシンアイソフォームを持つ心筋が筋フィラメント機能及びアクチンとミオシンの架橋構造に与える影響を筋フィラメントレベルにおいて生理学的に解析し、TG40 において認められた、筋フィラメントの速度・力の上昇、及び、より迅速なアクチンとミオシンのクロスブリッジサイクリングが頻脈による心筋症に対して防御的に働くメカニズムであることを示しえた。それに加え、ごく少量の心筋ミオシンアイソフォーム変化は、筋フィラメントの機能においてはごく軽度の変化しか引き起こさないこと筋フィラメントのレベルで明らかにした。本研究は  $\alpha$ -ミオシン重鎖過剰ウサギが頻拍による心筋症に対して防御的である事の、筋フィラメントレベルでのメカニズムを明らかにし、且つこれまで論争の的であった、心筋ミオシンアイソフォーム変化のヒトの心不全における意義の解明において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。