

The Akt-mTOR axis is a pivotal regulator of eccentric hypertrophy during volume overload

池田, 昌隆

<https://hdl.handle.net/2324/1654687>

出版情報：九州大学, 2015, 博士（医学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）



KYUSHU UNIVERSITY

論文名：The Akt-mTOR axis is a pivotal regulator of eccentric hypertrophy during volume overload

(Akt-mTOR 経路は容量負荷中の遠心性心肥大の中心的な制御機構である)

区分：甲

論文内容の要旨

心臓は血行動態負荷に対して主に二通りの肥大様式をとり、圧負荷により中心性心肥大、容量負荷により遠心性心肥大がそれぞれ惹起される。しかしながら、遠心性心肥大の分子機序については、十分な理解はされていない。一方で、生理学的には遠心性肥大と成長過程における心臓成長は類似しており、成長過程における細胞および臓器サイズの増大においては mTOR が主要な制御機構であることが知られる。そのため本論文では、遠心性肥大での mTOR の役割について着目し、Akt-mTOR 経路が容量負荷中における遠心性心肥大の中心的な制御機構であることを示す。

腹部動脈シャント作成による容量負荷モデルでは、4 週間で心臓、左室重量、左室拡張期径が増大する一方で、左室拡張末期圧および左室拡張末期圧、左室拡張末期径、平均左室壁厚から算出される拡張期壁応力はシャント作成後 7 日目に最大となり、シャント作成 28 日後に正常化した。これらの心筋サンプルを western blot 法にて解析を行ったところ、mTOR の下流分子である ribosomal S6 (S6) および 4E-binding protein (4E-BP) が、拡張期壁応力の程度と一致してリン酸化されており、この関係式は sigmoid curve による良好な近似が可能であった。さらに腹部動脈に異なるシャントサイズを作成し、作成 24 時間後に同様の解析を行ったところ、左室拡張末期圧と S6 のリン酸化で示される mTOR 活性値は 2 次関数で良好に近似された。

次に mTOR 阻害剤であるテムシロリムスの投与は、S6 および 4E-BP の脱リン酸化とともに、容量負荷での心臓拡大および心重量増加が抑制されるだけでなく、Sham マウスの心臓と比較し、容量負荷下でも心萎縮が惹起された。一方でテムシロリムス投与は、容量負荷下における生命予後を悪化させた。これらの結果により、mTOR が容量負荷中の遠心性肥大において中心的な制御機構であり、また遠心性肥大が容量負荷下においての生存に必須であることが示唆された。

mTOR の主要な上流分子として Akt が知られ、実際に容量負荷下では Akt がリン酸化され、活性化していた。加えて、western blot 法による membrane 上で Akt は smearing して観察され、容量負荷下では Akt が何らかの翻訳後修飾を受けていることが示唆された。Akt は成長因子刺激により K63 型ユビキチン化修飾を受け、Akt の細胞膜上への取り込みに関与することから、Akt を免疫沈降し、K63 ユビキチン抗体で免疫染色したところ、容量負荷下での Akt の翻訳後修飾は K63 ユビキチン化であることが確認された。次に Akt の細胞膜上への取り込み阻害作用を示す MK-2206 の投与では、容量負荷に伴う Akt リン酸化、および mTOR 活性化も抑制された。これらの結果より、容量負荷中における mTOR の活性化が Akt 依存性であること、また Akt の細胞膜上への取り込みが重要であることが示された。また右室、両心房でも容量負荷により活性化した Akt-mTOR 経路が、MK-2206 により抑制されており、左心室筋と同様であった。さらに成長因子の心臓での発現を検討したところ、インスリン様成長因子 (IGF) 、neugurelin-1 (NRG-1) 、connective tissue growth factor (CTGF) などが高発現しており、容量負荷における Akt-mTOR 経路の活性化に様々な成長因子が寄与している可能性が示唆された。

最後に心重量の経時変化を曲線近似し、得られた近似曲線を微分することで、心重量増加速度を算出したところ、心重量増加速度と mTOR 活性が線形関係にあることが示唆された。これに基づき、心重量が mTOR 活性値の積分値から精度よく算出できることを示した。さらに左室壁応力と mTOR 活性値の関係式が sigmoid curve で定量的に定義されていることから、左室拡張末期圧、左室拡張期径、左室平均壁厚から mTOR 活性値を推定することが可能であり、これらの生理学的数値から容量負荷下における心重量の推移を精度よく推定できることを示した。

本論文の結果は、Akt-mTOR 経路が遠心性心肥大において中心的な役割を果たしており、mTOR 活性が定量的に遠心性心肥大の進展速度を決定していることを示した。遠心性心肥大は心拍出量と左室拡張末期圧を制御する心臓における内在性のシステムであることから、我々の発見は心臓の適応機構に新たな知見をもたらすものである。