

(様式3号)

## 学位論文の要旨

氏名 白石 宏造

## 〔題名〕

遺伝子導入によるプロテインフォスファターゼ1 $\beta$ の発現抑制は圧負荷心不全モデルにおける心臓リモデリングを抑制する

〔要旨〕プロテインフォスファターゼ1 (PP1) 活性の異常な増加は筋小胞体におけるカルシウムサイクリングの非効率化に関連すると考えられており、心不全における心機能低下の原因となる。本研究では脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) プロモーターによって誘導されるプロテインフォスファターゼ1 $\beta$  (PP1 $\beta$ ) 発現抑制が、圧負荷心不全モデルマウスの心不全進行を改善しうるかを検証した。仮説を証明するために、BNPプロモーターによって発現するプロテインフォスファターゼ1 $\beta$  ショートヘアピンRNA (PP1 $\beta$  shRNA) をエンコードするアデノ随伴ウイルス9ベクター (AAV9) と陰性対照 (NCshRNA) を実験に用いた。発現マーカーとしてBNPプロモーターの下流にemerald green fluorescent protein expression (EmGFP) を配した。AAV9ベクター (AAV9-BNP-EmGFP-PP1 $\beta$  shRNAとAAV9-BNP-EmGFP-NCshRNA) は8週齢のC57BL6Jマウスに尾静注によって生体内投与 ( $4 \times 10^{11}$  GC/匹) し、投与後2週間目に大動脈弓結紮術 (transverse aortic constriction; TAC) を施行した。術前およびTAC施行後2週間毎に心エコー検査にて心機能を評価し、術後4週間目に血行動態の評価を行った。

AAV9-BNP-EmGFP-PP1 $\beta$  shRNA治療群では心筋でのPP1 $\beta$  発現が陰性対照と比較して15%抑制されていた ( $p < 0.001$ )。左室内径短縮率 (fractional shortening; %FS) はPP1 $\beta$  shRNA治療群において陰性対照群に対して有意に増加していた ( $21\% \pm 1.0\%$  対  $15\% \pm 0.01$ ,  $p < 0.01$ )。心重量 (heart weight; HW) /体重 (body weight; BW) および肺重量 (lung weight; LW) /体重比はPP1 $\beta$  shRNA治療群において陰性対照群と比較して有意に減少していた (HW/BW:  $9.20 \pm 0.49$  対  $10.6 \pm 0.45$  mg/g;  $p < 0.05$ , LW/BW:  $9.27 \pm 0.99$  対  $13.3 \pm 1.29$  mg/g;  $p < 0.05$ )。さらに、PP1 $\beta$  shRNA治療群において陰性対照群と比較して左室拡張末期圧 ( $17.2 \pm 3.93$  mmHg 対  $28.8 \pm 1.20$  mmHg,  $p < 0.05$ ) とBNPメッセンジャーRNA発現量が有意に減少 (陰性対照群と比較して40%減少) していた。マウスの生存率に関して、手術後7ヶ月の観察期間においてPP1 $\beta$  shRNA治療群で延長する傾向は認められたが統計学的有意差は認めなかった。本研究の結果、心不全によって誘導されるPP1 $\beta$  発現抑制を標的とした治療戦略が、1週間から1ヶ月の短期間の心不全治療の一選択となる可能性が示された。

## 作成要領

1. 要旨は、日本語で800字以内、1枚でまとめること。
2. 題名は、和訳を括弧書きで記載すること。

## 学位論文審査の結果の要旨

医学系研究科応用医工学系 (医学系)

報告番号	甲 第 1466 号	氏 名	白石 宏造
論文審査担当者	主査教授	廣野 公一	
	副査教授	小林 誠	
	副査教授	矢野 雅文	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) 遺伝子導入によるプロテインフォスファターゼ1βの発現抑制は圧負荷心不全モデルにおける心臓リモデリングを抑制する			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Heart failure-inducible Suppression of Protein Phosphatase 1β Partially Prevents Cardiac Remodeling in Experimental Pressure Overload-induced Heart Failure. (遺伝子導入によるプロテインフォスファターゼ1βの発現抑制は圧負荷心不全モデルにおける心臓リモデリングを抑制する) 掲載雑誌名 The Bulletin of the Yamaguchi Medical School 第6巻 第1-2号 (2017年6月掲載予定)			
(論文審査の要旨)			
<p>プロテインフォスファターゼ1 (PP1) 活性の異常な増加は筋小胞体におけるカルシウムサイクリングの非効率化に関連すると考えられており、心不全における心機能低下の原因となる。本研究では陽性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) プロモーターによって誘導されるプロテインフォスファターゼ1β (PP1β) 発現抑制が、圧負荷心不全モデルマウスの心不全進行を改善しうるかを検証した。仮説を証明するために、BNP プロモーターによって発現するプロテインフォスファターゼ1β ショートヘアピン RNA (PP1β shRNA) をエンコードするアデノ随伴ウイルス9ベクター (AAV9) と陰性対照 (NCshRNA) を実験に用いた。発現マーカーとして BNP プロモーターの下流に emerald green fluorescent protein expression (EmGFP) を配した。AAV9ベクター (AAV9-BNP-EmGFP-PP1β shRNA と AAV9-BNP-EmGFP-NCshRNA) は8週齢のC57BL/6Jマウスに尾静注によって生体内投与 (4x10<sup>11</sup> GC/匹) し、投与後2週間目に大動脈弓結紮術 (transverse aortic constriction; TAC) を施行した。術前および TAC 施行後2週間毎に心エコー検査にて心機能を評価し、術後4週間目に血行動態の評価を行った。</p> <p>AAV9-BNP-EmGFP-PP1β shRNA 治療群では心筋での PP1β 発現が陰性対照と比較して 15%抑制されていた (p&lt;0.001)。左室内径短縮率 (fractional shortening; %FS) は PP1β shRNA 治療群において陰性対照群に対して有意に増加していた (21±1.0% 対 15±0.01; p&lt;0.01)。心重量 (heart weight; HW) / 体重 (body weight; BW) および肺重量 (lung weight; LW) / 体重比は PP1β shRNA 治療群において陰性対照群と比較して有意に減少していた (HW/BW: 9.20±0.49 対 10.6±0.45 mg/g; p&lt;0.05, LW/BW: 9.27±0.99 対 13.3±1.29mg/g; p&lt;0.05)。さらに、PP1β shRNA 治療群において陰性対照群と比較して左室拡張末期圧 (17.2±3.93mmHg 対 28.8±1.20mmHg; p&lt;0.05) と BNP メッセンジャーRNA 発現量が有意に減少 (陰性対照群と比較して 40%減少) していた。マウスの生存率に関して、手術後7ヶ月の観察期間において PP1β shRNA 治療群で延長する傾向は認められたが統計学的有意差は認めなかった。本研究の結果、心不全によって誘導される PP1β 発現抑制を標的とした治療戦略が、1週間から1ヶ月の短期間の心不全治療の一選択となる可能性が示された。(731文字)</p> <p>本論文は心不全において PP1β 活性の抑制がホスホランパンのリン酸化増加を介して心筋リモデリングを抑制する可能性を示した。PP1β が拡張不全による心不全治療の新たな分子標的となる可能性について詳細に検討したものであり、学位論文として価値あるものと認めた。</p>			
備考 審査の要旨は800字以内とすること。			