

氏 名	にし ざわ じゅんいちろう 西 澤 純 一 郎
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1826 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Reperfusion causes significant activation of heat shock transcription factor 1 in ischemic rat heart (虚血再灌流心にける熱ショック転写因子 HSF1 の活性化に関する研究)

論文調査委員	(主 査) 教 授 北 徹 教 授 淀 井 淳 司 教 授 伴 敏 彦
--------	--

### 論 文 内 容 の 要 旨

生物は様々な刺激や環境の変化によって、ストレス蛋白質 (stress protein/heat shock protein; HSP) と呼ばれる一群の蛋白質を合成する。ストレス蛋白質は、これらの刺激によって起こる変性蛋白質の凝集を抑えること等によって、細胞レベルでの防御機構を担っている。この応答はストレス応答と呼ばれ、心臓においても種々の病的状態での発現が観察されている。更に、ストレス蛋白質の発現が、虚血後心機能の改善あるいは心筋梗塞範囲の縮小効果を持つことが明らかとなり、関心が高まっているが、心筋におけるその誘導のメカニズムについてはほとんど解明されていない。

一方、種々のストレスに対するストレス応答は、主として転写レベルで調節されており、その転写調節は、主にプロモーター領域の Heat Shock Element (HSE) への、熱ショック転写因子 (heat shock transcription factor; HSF) の結合によるものであることがわかっている。そこで、心筋における虚血再灌流時のストレス蛋白質誘導メカニズムを探るため、HSF の活性化について検討した。

#### [実験方法]

雄 Sprague-Dawley ラット (250~300 g) の摘出灌流心 (Langendorff 法) における、高温ストレス時 (42°C, 5~180分)、全虚血時 (2~60分) 及び虚血後再灌流時 (10~40分の全虚血後、再灌流10~60分) の組織を採取した。これらの組織の全細胞抽出液における、HSF の HSE に対する DNA 結合能の活性化をゲルシフト分析で調べた。更に、全虚血時 (10~60分) 及び虚血後再灌流時 (10~40分の全虚血後、再灌流20~180分) の組織における、熱ショック蛋白質 HSP70 及び HSP90 の mRNA レベルをノーザンプロットで調べた。

#### [結果]

全虚血のみでは、HSF の活性化は弱く、20分後には減衰し始めたが、虚血後再灌流を行うことにより活性化が著明に増強した。抗 HSF1 及び HSF2 抗体を用いたゲルシフト分析により、高温ストレス時や

虚血再灌流時に心臓で活性化される HSF は、HSF1 であることがわかった。ノーザンブロットで、HSP70 及び HSP90 の mRNA も虚血のみではほとんど誘導されなかったが、再灌流を行うことにより強く誘導された。また、HSP70 mRNA レベルは、虚血再灌流時の方が高温ストレス時に比し低かったのに対し、HSP90 mRNA レベルは、虚血再灌流時の方が、高温ストレス時に比べ明らかに高かった。

#### 〔結論〕

1) 虚血心において、虚血のみでは HSF の活性化及び HSP mRNA の誘導は弱く、主に虚血後再灌流の過程が HSF1 を活性化する事により、ストレス蛋白質が誘導されることがわかった。

2) HSP70 mRNA は、高温ストレス時に、虚血再灌流時より強く誘導されたが、これに反し HSP90 mRNA は、高温ストレス時に比し虚血再灌流時に強く誘導され、ストレス応答における HSF 以外の発現調節機構の存在が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

ストレス応答は、主にプロモーター領域の Heat Shock Element への Heat Shock Transcription Factor (HSF) の結合により調節されている。心筋における虚血再灌流時のストレス蛋白質誘導メカニズムを探るため、HSF の活性化について研究を行った。

S-D ラットの摘出灌流心 (Langendorff 法) における、全虚血時、及び虚血後再灌流時の心筋を採取し、HSF の HSE に対する DNA 結合能活性化をゲルシフト分析で調べた。更に、熱ショック蛋白質 HSP70 及び HSP90 の mRNA レベルをノーザンブロットで調べた。

虚血心において、虚血のみでは HSF の活性化及び HSP mRNA の誘導は弱く、主に虚血後再灌流の過程が HSF1 を活性化する事により、ストレス蛋白質が誘導されることがわかった。再灌流時の mRNA レベルは、高温ストレス時に比し、HSP70 では低い、HSP90 では高く、ストレス応答における HSF 以外の発現調節機構の存在が示唆された。

以上の研究は虚血心におけるストレス蛋白質誘導メカニズムの解明に貢献し、さらにはストレス蛋白質の心筋保護法への応用につながることを示唆したものであり、心臓外科学の進歩に寄与するところが多い。

従って、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 8 年 12 月 24 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。