

京都大学	博士（医学）	氏 名	犬塚 康孝
論文題目	Suppression of Phosphoinositide 3-kinase Prevents Cardiac Aging in Mice (PI3 キナーゼの抑制は心臓老化を予防する)		
(論文内容の要旨)			
【背景】加齢は心不全の独立した危険因子である。また、加齢と共に壮年期より心機能は低下しする。しかし、加齢に伴う心臓の変化（心臓老化）については十分に検討されておらず、心臓老化のメカニズムも明らかではない。個体老化のメカニズムとして複数の仮説が提唱されている。中でも、インスリン・シグナルは、その抑制により種を超えて寿命を延長することが分かっている為、老化を調節する大切な仕組みであると考えられている。class I phosphoinositide-3-kinase (PI3K)は、インスリン・シグナルの重要な標的分子であり、その抑制による線虫の寿命延長効果も報告されている。			
【目的】本研究の目的は、(1) 加齢に伴う心臓の変化を詳細に検討すること、(2) PI3K の抑制の心臓老化に与える影響を検討することである。			
【方法】若齢（3 ヶ月齢）および老齢（18-22 ヶ月年）の、野生型マウスおよび、心臓特異的に PI3K を抑制したマウス（dnPI3K マウス）の心機能を測定し、病理学的解析、遺伝子発現解析を行った。			
【結果】野生型マウスでは、心臓超音波検査における安静時心収縮能の指標である左室短縮率は、老化によって有意な変化を認めなかった。心機能の予備能を評価するために、ドブタミン負荷心臓カテテル検査を施行した所、心臓の収縮予備能は老化に伴い低下した。形態学的には、老化に伴い、心臓の肥大、心筋細胞の肥大、線維化の亢進を認めた。種々の細胞老化マーカー（senescence-associated galactosidase 活性、p16 などの細胞周期抑制因子の発現など）は、老化により増加した。マイクロアレイを使用した網羅的遺伝子発現解析では、タンパク品質管理に関係する遺伝子群の老化に伴う発現低下が特徴的であった。老齢マウスの心臓のタンパク品質管理状態を確認するために、異常タンパク集積の指標であるポリユビキチン化タンパクやリポフスチンの定量を行ったところ、共に増加が確認された。また、異常タンパク集積に伴い代償性に GST を初めとした解毒系酵素の遺伝子発現の亢進を認めた。dnPI3K マウスでは、老齢マウス加齢に伴う心収縮予備能の低下が予防され、線維化、細胞老化マーカーの発現、ポリユビキチン化タンパクやリポフスチンの蓄積が抑制された。また、マイクロアレイにおいて認められた老化に伴う遺伝子発現の変化の多くが、dnPI3K マウスでは抑制さた。 ラパマイシンを用いて、PI3K の重要な標的分子の1つである mTOR を抑制したところ、2 ヶ月間の慢性投与によりリポフスチンの蓄積および GST の発現が低下した。dnPI3K マウスでは、オートファジーの亢進、酸化ストレスの低下、蛋白合成の低下が見られ、PI3K の抑制は複数のメカニズムを介して老化を調節している可能性が示唆された。			
【結論】PI3K は哺乳類においても細胞・臓器レベルで老化を調節しており、PI3K 活性抑制は加齢に伴う心機能の低下を予防した。			

（論文審査の結果の要旨）

本研究では、加齢に伴う心臓の変化を詳細に調べ、インスリン・シグナルの重要な構成分子である PI3 キナーゼの活性の低下が心臓老化をどのように修飾するかを検討している。野生型マウスでは、加齢に伴い心臓の収縮予備能が低下し、線維化の亢進、p16 の発現などの種々の細胞老化マーカーの発現亢進を認めた。網羅的遺伝子発現解析では、老化に伴いタンパク品質管理に関係する遺伝子群の発現低下を認め、異常タンパク集積の指標であるポリユビキチン化タンパクやリポフスチンの蓄積を伴っていた。PI3 キナーゼのドミナント・ネガティブ変異体を心臓特異的に発現するマウス（dnPI3K マウス）では、加齢に伴う心収縮予備能の低下が予防され、線維化、細胞老化マーカーの発現、リポフスチンの蓄積が抑制された。また、マイクロアレイにおいて認められた老化に伴う遺伝子発現の変化の多くが、dnPI3K マウスでは抑制された。さらに、PI3 キナーゼの重要な下流遺伝子の1つである mTOR の阻害剤であるラパマイシンを野生型マウスに投与したところ、心臓老化マーカーであるリポフスチンの集積が抑制された。これらの結果より、PI3K は哺乳類においても細胞・臓器レベルで老化を調節しており、PI3K 活性抑制は加齢に伴う心機能の低下を予防することが示された。

以上の研究は心臓老化のメカニズムの解明に貢献し、高齢者心不全予防の新しい可能性を示すものと考えられる。

したがって、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 21 年 10 月 20 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。