




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 (課)・論	第 469 号	氏 名	ルン コン トウク Lung Cong Thuc
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	小 野 克 重	
	副査氏名	田 村 彰	
	副査氏名	穴 井 博 文	
<p>論文題目 Mitochondrial K_{ATP} channels-derived reaction oxygen species activate pro-survival pathway in pravastatin-induced cardioprotection (プラバスタチンによる心臓保護効果はミトコンドリア K_{ATP} チャンネル由来の活性酸素種による生存促進シグナル活性化を介する)</p> <p>論文掲載誌名 Apoptosis</p> <p>論文要旨 活性酸素種 (ROS) は細胞内の重要なシグナル伝達物質であり虚血心筋のプレコンディション等の心筋保護機構に作用することが知られている。一方、スタチンも心筋の虚血/再灌流傷害に対して保護作用を有することが知られているがその詳細なメカニズムは明らかではない。この研究はスタチン、特にプラバスタチンの心筋保護作用が ROS を介したシグナル経路に依存するという仮説を立てその検証を行った。実験は培養ラット心筋細胞に過酸化水素 (H₂O₂) を添加することによる細胞障害モデルを用いた。30 分間の H₂O₂ の添加によって生じる細胞傷害に対して、プロピオニルイオジン染色と MTT アッセイによる評価を用いてプラバスタチンが有意に細胞死を抑制することが明らかとなった。添加プラバスタチンは細胞カラターゼ活性を高め、さらに H₂O₂ による ROS の急激な増加が抑制され、その結果ミトコンドリア膜電位が保持された。プラバスタチンの心筋保護効果は約 10 分で発揮されるが、その効果は extracellular signal regulated kinases 1/2 (ERK1/2) のリン酸化の上昇と一致していた。全ての一酸化窒素合成酵素 (NOS) アイソフォームに対する阻害剤 L-NAME、ミトコンドリア K_{ATP} チャンネル阻害剤 5HD、細胞内グルタチオン濃度を高め抗酸化作用を有する N-acetylcysteine、及び protein kinase C (PKC) 阻害剤スタウロスポリンは ERK1/2 のリン酸化を抑制し、かつプラバスタチンによる心筋保護効果を減弱させた。この結果は、プラバスタチンの心筋保護効果に一酸化窒素 (NO)、ミトコンドリア K_{ATP} チャンネル、ROS 及び PKC が関与していることを示唆している。さらに、プラバスタチンは 5HD によって遮断される経路で ROS の産生を上昇させることも明らかとなった。ラット心灌流実験ではプラバスタチンの前投与によって虚血後の心機能は改善され心筋梗塞の範囲が有意に縮小することが明らかとなったが、この作用も前述の L-NAME、5HD、N-acetylcysteine、及びスタウロスポリンによって抑制を受けた。心筋虚血後の再灌流時にプラバスタチンを投与しても同様の心筋保護作用が得られた。プラバスタチンは ROS の急激な上昇を抑えミトコンドリア機能を保持することで心筋保護効果を発揮することが示唆された。以上の結果より、プラバスタチンはミトコンドリア K_{ATP} チャンネルを介して ROS を中等度に発現させその結果として細胞生存のシグナル経路が活性化して心筋保護作用が発揮させていると結論付けた。</p> <p>本研究はプラバスタチンの心筋保護効果がミトコンドリア K_{ATP} チャンネル開口と ROS の産生以下の ERK1/2 を介するシグナル経路であることを示した意義ある研究であり、審査委員の合議により本研究は学位論文に値するものであると判断した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 Luong Cong Thuc

論 文 題 目

Mitochondrial K_{ATP} channels-derived reactive oxygen species activate pro-survival pathway in pravastatin-induced cardioprotection

(プラバスタチンによる心臓保護効果はミトコンドリア K_{ATP} チャンネル由来の活性酸素種による生存促進シグナル活性化を介する)

要 旨

Introduction: Reactive oxygen species (ROS) are important intracellular signaling molecules and are implicated in cardioprotective pathways including ischemic preconditioning. Statins have been shown to have cardioprotective effects against ischemia/reperfusion injury; however, the precise mechanisms remain to be elucidated. We hypothesized that ROS-mediated signaling cascade may be involved in pravastatin-induced cardioprotection.

Methods and Results: Cultured rat cardiomyocytes were exposed to H₂O₂ for 30 min to induce cell injury. Pravastatin significantly suppressed H₂O₂-induced cell death evaluated by propidium iodide staining and the MTT assay. Incubation with pravastatin activated catalase, and prevented a ROS burst induced by H₂O₂, which preserved mitochondrial membrane potential. Protective effects were induced very rapidly within 10 min, which was concordant with the up-regulation of phosphorylated ERK1/2. L-NAME, 5HD, N-acetylcysteine (NAC) and staurosporine inhibited ERK1/2 phosphorylation and also reduced pravastatin-induced cardioprotection, suggesting NO, mitochondrial K_{ATP} (mitoK_{ATP}) channels, ROS and PKC should be involved in the cardioprotective signaling. We also demonstrated that pravastatin moderately up-regulated ROS generation in a 5HD-inhibitable manner. In isolated perfused rat heart experiments, pravastatin administered 10 min prior to no-flow global ischemia significantly improved left ventricular functional recovery, and also reduced infarct size, which were attenuated by the treatment with NAC, 5HD, L-NAME or staurosporine. Administration of pravastatin from the beginning of reperfusion also conferred cardioprotection.

Discussion: This is the first report that clarified the ROS-mediated and rapid cardioprotection by a statin. ROS produced by mitoK_{ATP} channels opening are reported to play a role in ischemic or pharmacological preconditioning. In this study we showed that pravastatin moderately increased mitoK_{ATP} channels-derived ROS production which ultimately activated catalase and prevented excess ROS production from occurring during reperfusion. The rapidly induced protective effects by pravastatin support the use of statins in acute myocardial infarction to reduce reperfusion injury.

Conclusion: Pravastatin protected the cardiomyocytes against oxidative stress by preventing the ROS burst and preserving mitochondrial function. Moderately up-regulated ROS production by mitoK_{ATP} channels opening is involved in the pro-survival signaling cascade activated by pravastatin.