

令和 6年 2月

Agung Kurniawan Priyono 学位論文審査要旨

主 査 松 尾 聡
副主査 山 本 一 博
同 今 村 武 史

主論文

Mitochondrial responses to sublethal doxorubicin in H9c2 cardiomyocytes: The role of phosphorylated CaMKII

(H9c2心筋細胞における致死量以下のドキソルビシンに対するミトコンドリアの反応：リン酸化CaMKIIの役割)

(著者：Agung Kurniawan Priyono、三明淳一郎、澤野達哉、市原克則、長田佳子、岡村昌宏、友森匠也、高見亜衣子、野津智美、山本一博、今村武史)

令和 6年 Yonago Acta Medica doi:10.33160/yam.2024.02.005

参考論文

1. Thrombin induces a temporal biphasic vascular response through the differential phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase via protease-activated receptor-1 and protein kinase C

(トロンビンは時間的に2相性の血管反応を示し、その機序はPAR-1受容体とPKCを介する内皮NO合成酵素の異なるリン酸化にある)

(著者：岡村昌宏、三明淳一郎、友森匠也、高見亜衣子、澤野達哉、加藤克、小倉一能、辻本大起、川谷俊輔、Kurniawan Priyono Agung、野津智美、久留一郎、山本一博、今村武史)

令和4年 Journal of Pharmacological Sciences 148巻 351頁～357頁

学位論文要旨

Mitochondrial responses to sublethal doxorubicin in H9c2 cardiomyocytes: The role of phosphorylated CaMKII

(H9c2心筋細胞における致死量以下のドキソルビシンに対するミトコンドリアの反応：
リン酸化CaMKIIの役割)

アントラサイクリン系抗がん剤であるドキソルビシン (Dox) は様々な組織の悪性腫瘍に対して有効性を示し、幅広く利用される抗がん剤である。一方で、副作用として心毒性を生じる頻度が高く、不可逆的な心不全に至る重篤例が報告されている。しかし、ドキソルビシンによる心毒性発症機序は十分には解明されておらず、治療法も確立されていない。本研究では培養心筋細胞を用いて、ドキソルビシン投与初期に生じる細胞内変化の検出に焦点を当てた。特に、細胞内カルシウム動態に関連するカルモジュリンキナーゼ2 (CaMKII) および、その下流において制御されるミトコンドリア機能を含めた解析を実施した。

方法

実験には培養心筋細胞 (H9c2細胞) を用い、細胞死を誘導しないドキソルビシン濃度を確認した。ドキソルビシンを 0.1、0.5、1.0 μM 濃度で24時間附置による心筋細胞内機能変化を以下のように解析した。CaMKIIタンパク発現およびリン酸化反応は、特異抗体を用いたウェスタンブロット法により検出した。ミトコンドリア機能解析では、膜電位、マイトファジー、およびミトコンドリア内カルシウム動態について、蛍光標識マーカーを用いて画像解析により定量評価した。ミトコンドリア機能制御因子であるCaMKII、ダイナミン関連タンパク1 (Drp1)、およびカルシウムユニポーター (MCU) によるミトコンドリア機能制御については、各々の特異的阻害剤を附置したH9c2細胞を用いて、ドキソルビシンによるミトコンドリア機能変化を解析した。

結果

ドキソルビシン (0.5 μM) を附置したH9c2細胞において、ミトコンドリア膜電位は対照に比して41.8%減少した一方、マイトファジーは62.1%亢進していることを見出した。同時に、ミトコンドリア内カルシウム濃度は対照に比し8.7倍に上昇していた。カルシウ

ム反応性キナーゼであるCaMKIIタンパクの発現量は対照と同等であったが、活性型であるリン酸化CaMKIIは1.8倍に上昇した。ミトコンドリア膜電位に影響を与えるCaMKII、Drp1、およびMCUについて、各々の特異的阻害剤を附置したところ、ドキソルビシンによるミトコンドリア膜電位およびマイトファジーの変化はCaMKII阻害剤によってのみ消失した。一方で、Drp1阻害剤、MCU阻害剤はドキソルビシンによる反応に影響を与えないことを見出した。

考 察

ドキソルビシンによる心毒性発症機序に関する既報の成果は複数あるが、治療成果に結び付いたものはなく、全容解明には至っていない。本研究ではミトコンドリア機能変化に着目し、ドキソルビシンによるリン酸化CaMKIIの増加がミトコンドリア機能障害に結びつく新知見を得た。更に、ミトコンドリア膜電位の制御に関与する複数の因子の中で、CaMKIIがドキソルビシン作用に介在することを見出した。ただし、本研究は培養細胞レベルでの知見であり、細胞間相互作用など生体内環境とは異なる点があるため今後の更なる研究展開が必要である。

結 論

有用な抗がん剤であるドキソルビシンの心毒性は、投与初期段階においてカルモジュリンキナーゼ2活性化を介したミトコンドリア膜電位減少作用に起因することを見出した。本成果は、ドキソルビシンの心毒性治療法の開発に役立つことが期待される。