

令和 2年 1月

Fikri Taufiq 学位論文審査要旨

主 査 谷 口 晋 一
副主査 山 本 一 博
同 久 留 一 郎

主論文

Uric acid-induced enhancements of Kv1.5 protein expression and channel activity via the Akt-HSF1-Hsp70 pathway in HL-1 atrial myocytes

(HL-1心房筋細胞におけるAkt-HSF1-Hsp70経路を介したKv1.5蛋白質発現およびチャネル活性の尿酸誘発性増強)

(著者：Fikri Taufiq、Nani Maharani、Peili Li、倉田康孝、池田信人、桑原政成、大谷直由、三明淳一郎、長谷川輝、経遠智一、白吉安昭、二宮治明、齊藤達哉、中井彰、山本一博、久留一郎)

平成31年 Circulation Journal 83巻 718頁～726頁

参考論文

1. Restoration of mutant hERG stability by inhibition of HDAC6

(HDAC6の抑制による変異体hERGの安定性の修復)

(著者：Peili Li、倉田康孝、Endang Mahati、二宮治明、檜垣克美、Fikri Taufiq、森川久未、白吉安昭、堀江稔、久留一郎)

平成30年 Journal of Molecular and Cellular Cardiology 115巻 158頁～169頁

学 位 論 文 要 旨

Uric acid-induced enhancements of Kv1.5 protein expression and channel activity via the Akt-HSF1-Hsp70 pathway in HL-1 atrial myocytes

(HL-1 心房筋細胞におけるAkt-HSF1-Hsp70経路を介したKv1.5蛋白質発現とチャネル活性の尿酸誘発性増強)

尿酸はプリン代謝の最終産物であり、種々に臓器障害と関連している。最近尿酸は心房細動のリスクと成り得る可能性が示されたが、その機序は不明である。心房細動の発生維持にはKチャネルの活性化に伴う活動電位短縮が重要である。先行研究において、尿酸により心房筋細胞Kv1.5蛋白の安定化を介してKv1.5チャネルが増加することが心房細動の発生に重要であることが報告されたが、その機序は不明である。本研究では心房筋HL-1細胞内に取り込まれた尿酸がAkt-HSF1-Hsp70の経路を介してKv1.5蛋白質が増加しKv1.5チャネルが増加することを見出した。

方 法

HL-1培養心房筋細胞を用いて、可溶性尿酸を添加した条件で、Kv1.5mRNA発現をreal time PCR法で、Kv1.5蛋白質の発現とその分解速度をウェスタンブロット法ならびにチェイス実験で評価した。細胞内への尿酸取り込みを¹⁴Cで放射性ラベルした尿酸を用いて解析した。Akt-HSF1-Hsp70 経路を検討するためにルシフェラーゼを用いたReporter gene assayを用いてHsp70の発現を評価し、Hsp70に対してのノックダウン実験を行った。Kv1.5チャネル活性はパッチクランプ法を用いて検討した。

結 果

尿酸(7 mg/dl)はHL-1細胞のKv1.5蛋白を有意に増加した。また尿酸はKv1.5蛋白質の分解速度を有意に遅延させたが、尿酸はKv1.5 mRNAレベルに影響しなかった。¹⁴Cで放射性ラベルした尿酸をHL-1細胞は時間依存性に取り込むが、URATv1の阻害薬であるbenzbromaroneはこれを抑制し、尿酸によるKv1.5蛋白質の増加を有意に抑制した。尿酸はAktのリン酸化やHSF-1のセリン326のリン酸化を有意に促進し、Hsp70蛋白質を有意に増加させた。この作用はIP3の阻害薬であるwortmanninにより相殺された。Reporter gene assayから尿酸はHsp70の転写活性を有意に増加させた。さらに尿酸によるHsp70とKv1.5蛋白質の増加は

Hsp70のノックダウンにより有意に相殺された。尿酸はHL-1細胞のKv1.5電流を有意に増加させたがHsp70のノックダウンはその作用を相殺した。

考 察

尿酸は、従来は細胞内の酸化ストレスを修飾することで、生物学的な反応を惹起すると考えられてきた。本研究では、HL-1細胞の尿酸への暴露はURATv1という尿酸輸送体を介して細胞内尿酸濃度を増加させ、Aktのリン酸化を促進することでHSF1のリン酸化を惹起して、Hsp70の転写活性を上昇させることによりKv1.5チャネル蛋白質の安定性を増やし、Kv1.5チャネル活性を増加させることが判明した。本研究で示された尿酸のHSF-1を介してのHsp70熱ショック蛋白質を誘導する事実は、従来の酸化ストレスの修飾因子と概念と異なり、尿酸が細胞内情報伝達系を介して代謝ストレス反応に重要な役割を演ずることを意味する。尿酸はこれまでの報告から心房細動の危険因子であることが示唆されてきた。本研究で判明した尿酸がHsp70を介してKv1.5蛋白質を安定化するという翻訳後修飾は、心房筋の活動電位持続時間の短縮を引き起し、心房細動の発生維持に関連する可能性を示している。URATv1を介した細胞内尿酸濃度の増加によるAkt-HSF1-Hsp70経路の活性化を制御できれば高尿酸血症合併心房細動に対しての新たな治療に繋がる可能性がある。

結 論

細胞内尿酸はAktとはHSF-1のリン酸化を促進しHsp70の発現増加を介するという新規経路でKv1.5チャネル蛋白質を安定化する。