

## Banyu Foundation Research Grant 2010—生活習慣病領域—

## 研究成果最終報告書〈概要〉

施設・所属: 奈良県立医科大学・血圧制御学講座 氏名 染川 智

1. 概要の構成は自由ですが、研究助成報告として広報資料に掲載されます点をご留意ください。
2. 研究目的、研究手法、研究成果など、一般の方にもわかりやすくしてください。
3. 枚数は1ページでまとめてください。(図表、写真などの添付を含む)

【研究目的】研究開始当初、慢性左心不全の病態の理解に比べて、右心不全、特に肺高血圧から続発する右心不全の病態の理解・治療法の遅れを痛感し、肺高血圧-右心不全は今後、循環器領域で解明しなくてはならない課題であるとの見解より、肺高血圧およびそれに伴う右心不全の発症や進展に関連する新規遺伝子を同定し、その意義の解明を行うことを目的として研究を計画した。肺高血圧性右心不全モデルであるモノクロタリン(MCT)ラットモデルと左心不全である大動脈縮窄マウスモデルおよび各対照コントロールの心臓の左室と右室からRNAを抽出しマイクロアレイ法で網羅的に遺伝子発現を比較した。その中から右心不全モデルの右室で特異的に発現が亢進する遺伝子を選択しさらに機能解析されていないTMEM100という遺伝子に着目した。

【研究手法・成果】: TMEM100は分子量20KDa程度の比較的小さな分子で、全くファミリーを持たない蛋白質であり、その構造から機能を推定することはできなかった。アミノ酸構造は魚から哺乳類まで極めて良く保存されており、生命維持に必須の蛋白質である可能性が期待された。抗体が存在せずに本助成を利用してポリクローナル抗体を数種類作製させていただいた。また、TMEM100 KOマウスを作製したところ、動脈の形成障害で胎生致死することが判明した(PNAS 2012に申請者がFirst authorで報告、本研究助成をAcknowledgementに掲載)。それらの研究からTMEM100はTGFβスーパーファミリーのBMP9やBMP10がそれらの受容体ALK1/BMP2の下流で発現が調節されることも示せた。さらに、TMEM100 KOマウスの形質がALK1 KOマウスと酷似していることから、TMEM100がALK1/BMP2の下流で不可欠な働きをしていることが示唆された。成体におけるTMEM100の発現部位は肺動脈内皮細胞、および右室心筋細胞に多く認められ、肺高血圧モデルの肺においてTMEM100の発現は低下し、右室での発現は上昇した。興味深いことに肺動脈性肺高血圧の原因としてALK1やBMP2受容体をコードする遺伝子の変異が報告されている。それらの受容体のシグナルの下流で機能をするTMEM100はその発現部位や肺高血圧・右心不全におけるそのユニークな発現変化からもこれらの病態に何らかの関与があると考えられた。肺高血圧や右心不全との関連を調べるため、薬剤(タモキシフェン)によりマウス成体でTMEM100のKOを誘導するためにCAG-Cre/Esr1マウスやCre-loxPシステムを用いたTMEM100 floxマウスを用いてTMEM100コンディショナルKO(cKO)マウスを作製した。しかし、通常の飼育条件ではこのcKOマウスに表現型は認められなかった。しかし、低酸素刺激による肺高血圧モデルにおいては、野生型のコントロールに比してTMEM100 cKOマウスは有意に肺高血圧症と右室肥大の増悪が認められた。一方、心筋細胞系譜のCreマウスを用いて心筋特異的にTMEM100をKOしたマウス(心筋TMEM100 cKO)も作製した。この心筋特異的TMEM100 cKOマウスは通常の飼育状態では表現型を認めず、現在までの予備的検討では低酸素刺激でも肺小動脈の中膜肥厚や筋性化率などの肺高血圧マーカーの指標、および右室重量の変化も野生型との間で有意な差は認められなかった。これらの実験から、肺高血圧における右室でのTMEM100の発現上昇の意義を依然解明できていないが、TMEM100が肺高血圧症の発症に関与する可能性を示すことができた。

【今後】以上の遺伝子欠損マウスを用いた実験からTMEM100が肺高血圧の病態に関与する可能性が判明したが、肺動脈内皮細胞におけるTMEM100がどのような機能をしているのか、その真の分子機序はまだ不明な点が多い。ファミリー蛋白質を持たない蛋白質が細胞内でどのような蛋白質と結合し機能を発揮しているのかなど、今後のさらなる検討が必要である。

