

成果報告書<概要>

施設・所属： 京都大学大学院医学研究科 循環器内科学

氏名： 桑原 康秀

1. 概要の構成は自由ですが、留学成果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. A4 1ページでまとめてください。(図表・写真などの貼付を含む、日本語)

[研究目的]

心不全は、心臓が全身に必要な血液量を拍出できなくなり、呼吸困難や浮腫等の症状が出現する誰でも一般的に罹患する症候群である。また一般に心肥大は圧負荷を受けた心臓に生じる心壁厚の増加で、心肥大は心不全発症リスクのひとつである。心不全の患者数は日本でも増加傾向であり、心肥大や心不全における新規発症機序の同定と、新規治療法の開発が求められている。

近年、次世代シーケンサー等のゲノム解析技術の発展により、個々人の全ゲノム解析を行うことで、ゲノム上の多くの塩基多型を同定することが可能になった。これを大規模コホートで行うと、多くの人が罹患する疾患の感受性(発症のしやすさ)と遺伝子多型との関係を結び付けることが可能である。

このコンセプトを心肥大に当てはめると、心肥大の感受性を規定する遺伝子多型を同定可能であり、更に同定した遺伝子自体も心肥大・心不全発症の分子機序に強く関与していると考えられる。留学中の Molkenkin

教授のグループは、マサチューセッツ総合病院との共同研究により、73,647人の患者において心肥大エクソームチップ解析を行い、心肥大を起こしやすくなる9つの遺伝子多型を7遺伝子上に同定した。7遺伝子のうちの2つは *Titin* と *Desmoplakin* であり、この2つの遺伝子変異は既にヒトにおいて心不全を呈する心筋症との関連が報告されている。

今回残りの5つの遺伝子の中で、最も統計学的に有意に心肥大に関与する遺伝子多型を有する遺伝子 *Flightless 1 Actin-binding Protein (Flii)* に着目し、その遺伝子の心臓における機能解析を試みた。

[研究方法と結果]

1) マウス心臓圧負荷モデルにおける FLII の発現変化

マウスの大動脈を縮窄するモデルは、心臓に心肥大から心機能低下を誘導する心臓リモデリングのモデルとして広く用いられている。この圧負荷心における FLII の発現を評価したところ、縮窄後1週間後、2週間後の心臓において有意にタンパク質レベルでの上昇を認めた。

2) ラット新生仔心筋細胞における FLII の機能解析

a. FLII の過剰発現系

FLII が心肥大に関与しているかどうかを評価するために、ラット新生仔心筋細胞に FLII を過剰発現し、心筋細胞肥大を誘導するフェニレフリン刺激を行った。心肥大の誘導程度を肥大マーカーである BNP の発現量で評価したところ、コントロールと比較し、有意に上昇した。

b. FLII の発現抑制系

更にレンチウイルスを用いてラット新生仔心筋細胞において FLII を発現抑制し、同様の実験を行った。心肥大の誘導程度を肥大マーカーである BNP の発現量はコントロールと比較し、有意に低下していた。

これらの結果は FLII が心筋肥大に関与していることを示唆していると考えられた。

3) ラット新生仔心筋細胞における FLII の細胞内分布の評価

次に FLII の細胞内分布を調べるために免疫細胞染色にて FLII の細胞内分布を評価した。また細胞タンパク質を核と細胞質タンパク質に分離し、FLII の発現を評価したところ、肥大刺激により、細胞質 FLII の発現量が増加した。これらの結果は肥大刺激により FLII が細胞質に強く集積することを示唆している。

[考察と現在進行中の研究]

この1年で行った主に心筋細胞を用いた検討は、**同定した FLII が心肥大に強く関与することを示唆している**。一方、生体における FLII の機能を検討するには FLII 欠損マウスが有用と考えられるが、FLII のホモ欠損マウスは胎生致死であることがすでに報告されている。そこで、現在心筋細胞特異的 FLII 欠損マウスと線維芽細胞特異的 FLII 欠損マウスを作成中である。これらのマウスの詳細な検討により生体における FLII の心臓での生理的役割と心肥大における FLII の機能が解明可能であると考えている。

また心肥大エクソームチップ解析により同定した FLII 上の遺伝子多型が、どのように心肥大の感受性に関与するかを解明できれば、心肥大ひいては心不全のなりやすさの遺伝子診断に応用可能であると考えている。

