

海外留学助成 2017 – 生活習慣病領域 –
成果報告書 <概要>

施設・所属	Stanford 大学 医学部 小児循環器内科
氏名	磯部 更紗
研究テーマ	肺高血圧症における DNA 損傷と遺伝子発現制御による発症メカニズムの解明

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. A 4 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、日本語）

【研究目的】

肺動脈性肺高血圧症（PAH）は、肺血管内皮機能異常と慢性炎症の持続が病態の主体と考えられる未だ機序不明の予後不良の疾患である。遺伝性 PAH 患者の 70%および特発性 PAH 患者の 20%に BMPR2 による機能喪失変異が認められる。我々のグループは、これまで BMPR2-PPAR γ 軸が肺血管の恒常性を維持していることを報告した（Alastalo et al. JCI 2011）。肺血管病変部位では、 γ H2AX の発現、体細胞染色体異常が認められ、DNA 損傷が認められる（Aldred et al. AJRCCM. 2010）。さらに我々は、ヒト肺血管内皮において、PPAR γ は DNA 損傷センサー-MRE11-RAD50-NBS1（MRN）および E3 ユビキチンリガーゼ（UBR5）との相互作用し、DNA 修復に関与していることを明らかにした（Li et al. Cell Rep. 2019）。しかし、BMPR2 がどのように PPAR γ を介して DNA 損傷に対して保護的に機能しているのか、ゲノム不安定性がどのように遺伝子発現を制御し、病態形成に寄与しているのか解明されていない。そこで、本研究では、病態形成を引き起こす遺伝子発現制御と新規治療標的を解明するために、肺高血圧症における PPAR γ の DNA 損傷に対する修復機能低下のメカニズム、BMPR2 欠損肺血管内皮細胞及び患者検体を用いた DNA 損傷と遺伝子発現の解析、動物モデルによる DNA 損傷と PAH の発症に関わる遺伝子発現の解析を行うこととした。

【研究手法】

PPAR γ は、サイトカインにより活性化された CDK5 によってセリン 273 がリン酸化されると報告されている（Choi et al. Nature 2010）。そこで、PAH では、PPAR γ がリン酸化されて MRN 及び UBR5 との相互作用が低下し、DNA 損傷の修復が阻害されるのではないかと仮説をたてた。BMPR2 をノックダウンした肺血管内皮細胞に TNF α による刺激を加えると PPAR γ のリン酸化が上昇するかを検討する。

PAH 患者では BMPR2 変異がない患者でも肺血管内皮の BMPR2 発現が低下している。そのため、PAH では、BMPR2 が低下するとオープンクロマチン領域が変化しその領域に DNA 損傷が生じやすく、それにより遺伝子発現が変化しているのではないかと仮定した。そこで、患者及び BMPR2 ノックダウン肺血管内皮細胞を用いて、 γ H2AX-ChIP シークエンスと ATAC-シークエンスを使用して、DNA 損傷領域がオープンクロマチンと同じ部位にあるかを調べ、遺伝子の発現の変化を同定するために RNA シークエンスを行う。また、DNA 損傷が PAH を発症させるのに十分であるかを検討するため動物モデルを使用して検討する。

【研究成果】

患者の肺血管内皮細胞では、正常の肺血管内皮と比較して PPAR γ がリン酸化していた。さらに、BMPR2 のノックダウンでも PPAR γ のリン酸化が認められた。今後は、PPAR γ のリン酸化によって UBR5 との結合が損なわれるかどうかを検討する。さらに、現在 γ H2AX-ChIP シークエンス及び ATAC-シークエンスの結果について解析を行っており、今後はいくつかの遺伝子に着目し、機能解析を行って行く予定である。