

論文内容の要旨

心肥大モデルにおける細胞接着因子ギセリン/CD146 の発現および発現制御機構の解明

I. 研究目的

細胞接着因子であるギセリン/CD146 は神経細胞の突起伸展, 移動に関係していることが明らかとなっており, 神経系以外のさまざまな組織でも発現している. 神経系の発達において, ギセリン/CD146 は細胞分裂を伴わないニューロン分化の時期に発現しており, 神経系の発達後, ギセリン/CD146 の発現は消失する.

心臓においては, ギセリン/CD146 が成体ラットで発現していることが報告されており, ギセリン/CD146 が成体の心機能に何らかの役割を果たしていることが推測される. 哺乳動物では, 心筋細胞は胎児期にのみ増殖能を有し, 出生後の心筋細胞は増殖することなく, 速やかにその機能を消失する. そのため, 成体細胞の容積を増大させるだけである. また, 病的な心肥大においても, 心筋細胞は増殖することなくその容積を増大させる. したがって, ギセリン/CD146 の心臓における機能として, 心筋細胞の容積増大に関与している可能性が考えられる.

本研究は, 病的な心肥大の過程および, 出生後の心臓の容積増大におけるギセリン/CD146 の発現とその制御機構について解明することを目的としている.

II. 研究対象ならびに方法

ラットの大動脈起始部を狭窄 (AAC, Ascending aortic constriction) させることにより, 心肥大モデルラットを作製した. このラットにおける心肥大時のギセリン/CD146 の発現量を解析し, 心肥大とギセリン/CD146 との発現の関連を検討した. 同時に, 心肥大のマーカーとされている β -ミオシン重鎖 (MHC) の発現量とギセリン/CD146 の発現量との相関を解析した. また, 出生後のラットの心臓におけるギセリン/CD146 の発現および, 出生後に発現が変化することが確認されている α -MHC および β -MHC の発現についても検討を行った.

神経細胞では, ギセリン/CD146 の転写は転写調節因子 CREB がギセリン/CD146 遺伝子のプロモーター領域に存在する CRE 配列に結合することで活性化されるため, その転写調節には, MAP 経路が関与していると考えられている. そこで, 伸展刺激を加えたラット心筋由来培養細胞 H9c2 に, MAP 経路の p38 MAP キナーゼ, MEK1/2 の阻害剤を添加することにより, 心筋細胞におけるギセリン/CD146 遺伝子の発現メカニズムを解析した.

Ⅲ. 研究結果

心肥大のマーカーである β -MHCの発現量は、AAC処置後、経時的に増加し、4週では3倍に増加していた。一方、ギセリン/CD146遺伝子の発現レベルについては、AAC処置1週間後でピークに達し、徐々に低下し、儀手術群（シャム群）と変わらないことが確認された。心臓全体のギセリン/CD146タンパク質の発現量についても、AAC処置の1週間後においてシャム群と比較して増加していることを確認している。また、心臓の各部位におけるギセリン/CD146タンパク質の発現を確認したところ、統計的な有意差はつかないもののどの部位においても発現の増大が確認された。

新生児の心臓におけるギセリン/CD146遺伝子発現は、増大した。その発現量は生後1週でピークに達し、生後1日目の2倍量であった。生後4週目では、生後1日目の半分に減少した。一方、MHCの発現については、生後1週目で β -MHCの発現量が低下するとともに α -MHCの発現量が増大することが確認された。

心筋由来培養細胞H9c2においては、伸展刺激によりギセリン/CD146の発現上昇が確認された。このギセリン/CD146の発現上昇はp38 MAPキナーゼ阻害剤の添加により減少したが、MEK1/2阻害剤の添加では減少傾向は見られたものの、有意な差は認められなかった。

Ⅳ. 結 語

心肥大モデルラット心筋において、ギセリン/CD146の発現が増大することを確認した。ギセリン/CD146の発現のピークは β -MHC mRNAの発現増大が始まる前であり、このことはギセリン/CD146が心筋肥大の初期段階に関与していることを示唆している。一方、ラット新生児の心臓におけるギセリン/CD146の発現は、 β -MHCの発現が低下してくる生後1週目でピークに達した。この時期は α -MHCの発現が増加する前であった。以上の結果から、ギセリン/CD146の増加はMHCアイソフォームの発現変化とは関連性がないと考えられた。また、H9c2細胞を用いた実験においては、伸展刺激によるギセリン/CD146の発現増加がp38 MAPキナーゼ阻害剤の添加によって抑制されたことから、ギセリン/CD146の発現はp38 MAPキナーゼを介したMAP経路により調節されていると考えられた。

さらに、微小突起の伸展におけるギセリン/CD146とアクチン細胞骨格との相互作用の報告から、心筋細胞においてもギセリン/CD146とアクチン細胞骨格の相互作用が必要であり、肥大した心筋細胞において増加したアクチン細胞骨格に対応してギセリン/CD146の発現が増大している可能性がある。今後は、心肥大時のギセリン/CD146の発現を免疫組織化学で調べることにより、心肥大時のギセリン/CD146の機能についてさらに解析を進めていく。

主論文

Expression of cell adhesion molecule, Glycerin/CD146 during the formation of heart and in the cardiac hypertrophy

(小原真美, 佐藤幸子, 高橋公美, 近藤ゆき子, 弘瀬雅教, 那谷耕司, 平英一)

(心臓の形成および肥大時における細胞接着因子ギセリン/CD146 の発現)

Molecular and Cellular Biochemistry in press

参考論文

1. Deterioration of Glycemic Control Contributes to the Prevalence of Proteinuria among Bevacizumab-Treated Cancer Patients with Type2 Diabetes Mellitus

(千葉健史, 他 6 名)

(血糖コントロールの悪化は、ベバシズマブ治療を受けた 2 型糖尿病を持つ癌患者での蛋白尿発現の一因となる)

Biological and Pharmaceutical Bulletin vol. 41 1722-1726 2018

2. Chronic HDAC6 activation induces atrial fibrillation through atrial electrical and structural remodeling in transgenic mice

(澤陽平, 他 10 名))

(HDAC6 の慢性的心臓特異的強発現は、心房の電氣的・構造的リモデリングを介して心房細動を誘発する)

International Heart Journal in press

論文審査担当者

主査 教授 三部篤（病態薬理学講座薬剤治療学分野）
副査 教授 弘瀬雅教（病態薬理学講座分子細胞薬理学分野）
副査 教授 工藤賢三（臨床薬学講座臨床薬剤学分野）

論文審査の結果の要旨

本研究は、心臓での細胞接着因子ギゼリン/CD146 の役割を解明することを目的としている。申請者は、SD ラットを用いて胸部大動脈狭窄(TAC)による圧負荷心肥大モデルを作製し、肥大心筋でのギゼリン/CD146 の遺伝子発現の変化を解析した。その結果、TAC 後 1 週間で、心筋ギゼリン/CD146 遺伝子発現量およびそのタンパク質量は増加していた。肥大心筋でのギゼリン/CD146 のタンパク質量の増加は、心臓のどの部位でも認められた。生体内での実験と同時に、ラット心筋由来細胞株 H9C2 細胞を用いて、ギゼリン/CD146 の遺伝子発現機構を検討した。20%の伸長率、60 往復/分の刺激頻度で 24 時間進展刺激をかけた H9C2 細胞では、ギゼリン/CD146 の遺伝子発現が上昇していた。また、その発現上昇は、p38 MAP キナーゼ阻害薬である SB203580 の処置によって抑制された。これらの結果は、心筋細胞において、進展刺激によるギゼリン/CD146 の遺伝子発現上昇は、p38MAP キナーゼ経路を介して行われることを示唆する。ギゼリン/CD146 の神経細胞での機能は、細胞間および細胞-細胞外基質因子間の接着による神経突起伸展の制御である。そのため、心筋細胞でのギゼリン/CD146 は、圧負荷など進展刺激により起こる心筋細胞の肥大反応に関わっていると考えられた。

試験・試問の結果の要旨

申請者は、上記の論文に沿った内容を、今後の課題を含めて分かりやすく発表した。発表では、研究の学術的背景や結果・考察を丁寧に説明した上、図の重要な点を見やすく工夫していた。そのため、研究の重要性や課題、実験方法、結果とその解釈が理解しやすく、質疑応答での活発な議論につながった。

質疑応答での質問は、研究の背景、具体的な実験操作あるいはデータの算出方法など多岐に及んだ。申請者は、殆どの質問において、その意図を正しく理解し、これまでの報告などを踏まえながら回答した。これら肥大心筋でのギゼリン/CD146 の増加は、進展刺激による心筋細胞肥大の新たな情報伝達経路となりえる非常に興味深い結果である。以上のことから、最終試験合格、博士（薬学）の学位にふさわしいものと考えられる。