

心筋の恒常性維持と破綻における classI HDAC の意義の解明

桑原宏一郎

信州大学 医学部 循環器内科学

【研究の背景】

慢性心不全は予後不良の症候群であり、病態解明と新規予防・治療法開発が望まれる。不全心では、胎児期の心室に認められるが生後は低下する一連の遺伝子発現プログラムが再誘導され、心筋胎児型遺伝子再活性化として心不全病態形成に重要な役割を果たす。こうしたことから、心不全に至る過程における心筋遺伝子発現変化の分子メカニズムの解明が、慢性心不全発症・進展の分子機序解明、新規心不全治療標的の同定につながると考えられる。

申請者は、不全心において特徴的な遺伝子発現変化に関わる転写調節経路の研究を行ってきた。その結果、NRSF 転写抑制複合体の心不全発症に至る病的な心筋リモデリングにおける重要性を明らかにし、さらにその機能制御機構および標的遺伝子の病態生理学的意義について研究を行い、複数の新規心不全予防・治療標的を見出してきた。

【目 的】

最近申請者らは、NRSF 転写抑制複合体の重要な構成因子であるヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)1・2 の誘導性心筋特異的ノックアウトマウス(HDAC1・2 dcKO)の作成に成功した。本申請研究では、今まで申請者が行ってきた心不全発症・進展に関わる遺伝子転写制御経路の研究をさらに発展させるべく、HDAC1・2 に注目して、成体心筋の機能維持とその破綻における HDAC1・2 の役割の詳細な解明とそれに基づく心不全分子病態解明、新規心不全予防・治療標的の同定をめざす。

【方 法】

HDAC1・2 ダブル flox マウスと心筋特異的タモキシフェン誘導性 CRE マウスを交配し、成体マウス心筋において心筋特異的に HDAC1・2 dcKO を誘導し、解析を行った。現在一般的に使用される心筋特異的誘導性 CRE マウス(α MHC-MerCreMer)はタモキシフェン投与後に一過性の高度心機能低下を起こし、解析上の問題とされている。そこで本研究では、Offermanns らが新たに作成した α MHC-CRE ERT2 を導入し、タモキシフェン投与後の一過性心機能低下が起こらないことを確認し、成体において心筋特異的 HDAC1・2 cdKO を作製することに成功した。本申請研究では HDAC1・2 cdKO の表現形質を生理学的、生化学的、分子生物学的手法などを多面的に用いて解析した。

【結 果】

α MHC-CRE ERT2 を用いて成獣において HDAC1・2 をノックアウトした心筋特異的誘導性 HDAC1・2 ダブルノックアウトマウスの作製に成功した。本マウス(HDAC1・2 cdKO)のメスではタモキシフェンによる誘導後 4 週間から継続的かつ著明な心機能低下と心拡大を示し、また ANP、BNP をはじめとする心筋胎児型遺伝子の発現亢進を認めた。心拍数の有意な変動は認めなかった。一方で、オスの HDAC1・2 cdKO では明らかな心機能低下や心拡大は認めなかったが、ANP、BNP をはじめとする心筋胎児型遺伝子の再誘導はメスに比較して程度は軽いものの認められ、HDAC1、2 が直接的にこれら遺伝子の発現抑制に心筋において働いていることが示唆された。HDAC1・2 cdKO の心機能における精査を明らかにするべく、メスに

おける卵巣摘出を行い、心機能に対する作用を検討したが、明らかな心機能の改善は認めず、女性ホルモンの影響によるものではないことが示唆された。現在、オスおよびメスの HDAC1・2 cdKO 心室における遺伝子発現をマイクロアレイにて比較検討する解析を行っており、加えてアセチル化ヒストンに対する ChIP アッセイを用いた解析を開始している。

【考 察】

成体の心筋の機能維持に HDAC1、2 がメスにおいて必須の働きをしていることが明らかとなった。その分子機序及び性差の生じる機序について引き続き検討を行っている。本研究は心不全発症におけるエピゲノム制御機構の一端を明らかにすることにつながるものと考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究は心不全発症におけるエピゲノム制御機構の一端を明らかにすることにつながり、新規の心不全治療、予防薬の開発につながることが期待できる。また、現在 HDAC 阻害薬が抗腫瘍薬として用いられ、その心毒性が注目されており、本研究はそのメカニズム解明、予防法の開発にもつながることが期待できる。

【参考・引用文献】

1. Kuwahara K, Saito Y, Takano M, Arai Y, Yasuno S, Nakagawa Y, Takahashi N, Adachi Y, Takemura G, Horie M, Miyamoto Y, Morisaki T, Kuratomi S, Noma A, Fujiwara H, Yoshimasa Y, Kinoshita H, Kawakami R, Kishimoto I, Nakanishi M, Usami S, Saito Y, Harada M, and Nakao K. NRSF regulates fetal cardiac gene program and maintains normal cardiac structure and function. **EMBO. J** 22(23), 6310–6321.2003.
2. Kuwahara K, Saito Y, Ogawa E, Takahashi N, Nakagawa Y, Naruse Y, Harada M, Hamanaka I, Izumi T, Miyamoto Y, Kishimoto I, Kawakami R, Nakanishi M, Mori N and Nakao K. The neuron-restrictive silencer element–neuron-restrictive silencer factor system regulates basal and endothelin-1-inducible atrial natriuretic peptide gene expression in ventricular myocytes. **Mol. Cell. Biol.** 21(6), 2085–2097. 2001.