

抗動脈内皮細胞で高発現している霊長類特異的遺伝子 *POTEE* は RAN シグナルを調整し NF κ B の核外輸出を促進することで動脈硬化を抑制する

楠本 大

慶應義塾大学 医学部 循環器内科/救急科

【研究の背景】

動脈硬化進行は、リスク因子の暴露に大きな影響を受けるが、患者の遺伝的要因にも大きく左右される。中には、非常に大きなリスク因子を有しているにもかかわらず動脈硬化進行が全く認められない患者がいる。そのような抗動脈硬化患者では内因性の強力な抗動脈硬化機構が働いているはずである。iPS 細胞は様々な細胞に分化可能であり、患者の遺伝的背景をそのまま有しているため、患者の内因性の機構を細胞レベルで解析可能である。動脈硬化の進展に血管内皮細胞は大きな役割を果たしていることから我々は血管内皮細胞に着目し、抗動脈硬化患者より iPS 細胞を樹立し、血管内皮細胞へ分化誘導を行った。iPS 細胞由来血管内皮細胞では酸化ストレスに誘導される細胞老化、炎症が抑制されており、網羅的トランスクリプトーム解析を行い霊長類特異的遺伝子 *POTEE* が高発現していることを先行研究にて突き止めた。

【目 的】

抗動脈血管内皮細胞にて高発現している霊長類特異的遺伝子 *POTEE* が、血管内皮細胞において抗動脈硬化機構に重要な役割を果たしているかどうか細胞・動物レベルで検証を行い、新規の創薬に結び付けたいと考えた。

【方 法】

まずは細胞を用いた実験により *POTEE* がどのようなメカニズムで抗動脈をもたらすか検討を行った。*POTEE* を培養血管内皮細胞に強制発現させることで、抗動脈硬化 iPS 細胞で認めたように細胞老化や炎症惹起が抑制されるかどうか検討を行った。また細胞老化や炎症惹起を誘導する重要な転写因子 NF κ B の活性化を調整するかどうかカルシフェラーゼアッセイなどを用いて検討した。*POTEE* は Ankryn ドメインを有しており細胞質に存在していることからタンパク相互作用を介して機能を発揮していると考えられる。そこで質量分析法を用いて *POTEE* の結合蛋白を網羅的に解析し、抗動脈硬化機構の詳細なメカニズムの解明を行った。次に動物モデルとしてマウスを用いて *POTEE* が動脈硬化進展を抑制できるか検証を行った。マウスでは *POTEE* は発現していないことから、血管内皮細胞特異的 Tie2 プロモーター下で *POTEE* を強制発現させるマウス (*POTEE*-Tg) を作成し、大腿動脈カフモデルを用いて血管炎症を誘導した。さらに *POTEE*-Tg を APOE ノックアウトマウスと交配させ (*POTEE*-Tg/APOE^{-/-})、高脂肪食を投与して動脈硬化を誘導し、*POTEE* が動脈硬化を抑制できるか検討した。

【結 果】

POTEE を培養血管内皮細胞に強制発現させると、酸化ストレスに誘導される細胞老化や炎症を抑制し、NF κ B の活性化を抑制した。さらに TNA- α に誘導される NF κ B の活性化も抑制し、*POTEE* をノックダウンすることで NF κ B の活性化が促進することが判明した。これらのことから *POTEE* は何らかのメカニズムで NF κ B の活性を直接抑制していると考えられた。*POTEE* の結合蛋白を網羅的に解析すると、低分子 G 蛋白である RAN シグナルと強く相互作用していることが分かった。

RAN 活性を定量すると POTEE は RAN 加水分解を促進することで RAN シグナルを促進することが判明した。RAN シグナルは NF κ B の核外輸出を促進することで作用を抑制することから、POTEE は RAN シグナルを促進することで NF κ B を抑制し、細胞老化や炎症を抑制していると考えられた。次に POTEE-Tg マウスに大腿動脈カフモデルを用いて血管炎症を誘導した。POTEE-Tg マウスでは内膜肥厚や炎症惹起が著明に抑制された事から、血管内皮細胞での炎症を抑制していると考えられた。またさらに POTEE-Tg/APOE^{-/-} マウスに高脂肪食を投与して動脈硬化を誘導すると、動脈硬化プラークが著明に減少する事が判明し、POTEE は動脈硬化を抑制する新規治療法となりうる事が示された。

【考 察】

今回 POTEE は RNA シグナルの活性化を促進する事で NF κ B の作用を減弱し、細胞老化・炎症を抑制し、動脈硬化進展を抑制することが判明した。近年、細胞老化に誘導される炎症の制御は、動脈硬化をはじめとした慢性炎症の病態を治療する非常に良いターゲットであると言われている。慢性炎症は、動脈硬化、糖尿病、心不全や、さらに発癌にも関与していることが知られており、細胞老化を制御する機構は個体老化を制御する治療法となりうる。哺乳類は体重と寿命が相関関係にあることが古くから知られているが、霊長類は哺乳類の中でも特別寿命が長いことが知られており、霊長類特異的遺伝子の中に長寿を規定する遺伝子があることが予測されている。POTEE は RAN、NF κ B という非常に保存されたシグナルに影響を及ぼし慢性炎症の病態に大切な細胞老化を抑制する事から、血管内皮細胞以外でも老化や炎症を抑制し、抗老化として作用する可能性がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

近年細胞老化は個体老化進展に非常に重要な役割を果たしていることが話題となっており、老化細胞に対する分子標的療法開発が盛んに行われている。動物モデルを用いた研究では動脈硬化などが著明に抑制されることが示された。しかしながら、老化細胞制御の候補薬は抗癌剤が多く慢性病態に対する治療薬として臨床応用することは副作用の面で懸念がある。POTEE はもともと生体内に存在する生理的な遺伝子であり、POTEE を利用した治療法を検討することでより副作用の少ない画期的な治療法開発につながる事が期待される。