

## 受賞者

竹内 純

東京工業大学グローバルエッジ研究院心循環器研究部門

## 研究テーマ

### 変異マウスをもちいた心筋症の解明

#### 1. 目的

代謝異常によって起こりうる心疾患は様々あるが、その中で本研究は心筋症の直接的な原因解明に向けて焦点を当てた研究を行う。本研究は二種類 (*Brg1*、*Sall4*) の心筋異常を伴った変異マウスを使用することで生理学的解析はもとより、分子レベルでの解析を行うことによって代謝における特異な転写調節メカニズムの発見と新領域の開拓を目指す。

#### 2. 方法

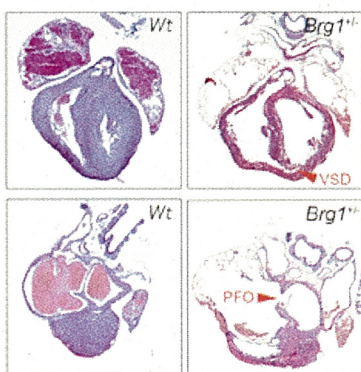
##### 1: 拡張型心筋症発症原因解明

*Brg1* ヘテロマウス (4週齢) において、心臓壁が希薄になり拡張型心筋症の兆候が見受けられる (図1右)。左心室エコーにおいて、左室の拡張障害が見受けられる。他の組織における形態異常は見受けられないことから、*Brg1* は組織特異的な機能を持ち合わせていると解釈できる。よって、マイクロアレーを用いて *Brg1* の下流で働く心臓機能転写因子と心筋層構造形成に関わる因子やチャネル系因子の網羅的な探索を行う。

##### 2: 肥大型心筋症発症解明

*Spalt* の遺伝子上に *LacZ* が挿入されたジーントラップ系マウス(8週齢)において、心肥大とともに極度の肥大型心筋症の兆候が見受けられた (図2右)。今後、刺激伝導系の解析を行っていくとともに、マイクロアレーを用いて *Spalt* の下流因子の網羅的な探索や、RealTimePCR法を用いて発現変化した遺伝子の定量化を行う。

#### 3. 結果 研究成果



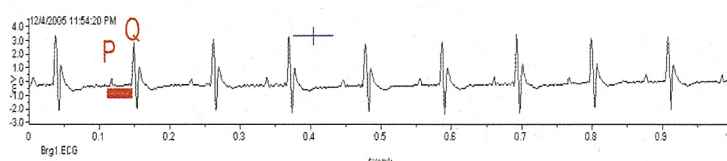
(図1)



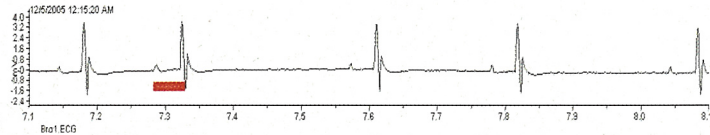
(図2)

#### 1: *Brg1* deficientマウスでの心機能解析

##### 1- 1: 心電図による評価と下流因子の候補選出



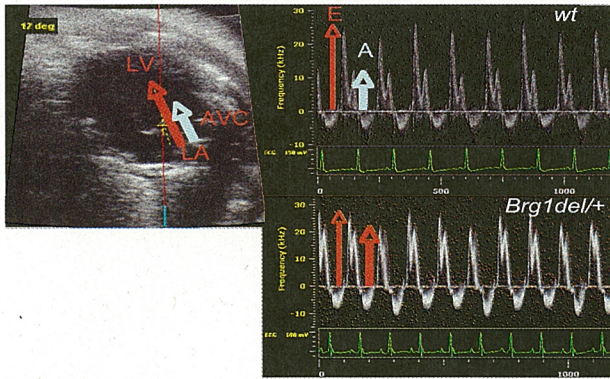
正常マウスの心波形 (図3)



Brg1ヘテロマウスの心波形(図4)

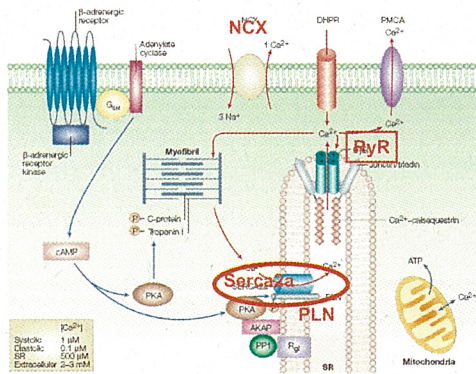
上記結果から、Brg1マウスはリズムよい拍動が見受けられないことが明らかとなった。心臓刺激伝導系の異常が見受けられる。つまり、突発性の心筋梗塞等になり易い。

1- 2 ; 心エコーによる評価と下流因子の候補選出

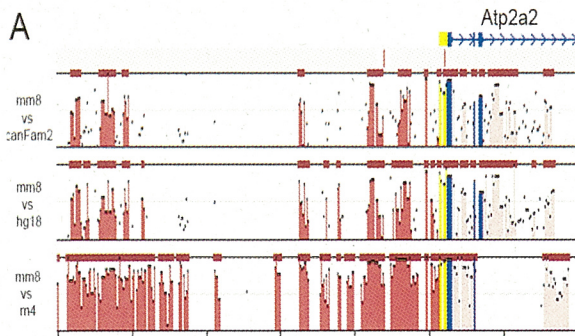


(図5 ; 左房駆低下と心室拡張阻害)

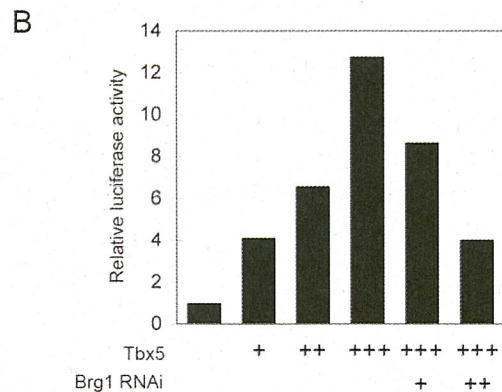
拡張障害を起こす可能性のある因子としてCa<sup>2+</sup>チャネル系因子の一つSerca2aが候補因子として選出された(下図6)。このプロモーター解析結果から、Brg1がSerca2aプロモーターを刺激し、Serca2の転写を直接制御していることを明らかにした(図7、8)(Zhu et al., PNAS. 2008)。



(図6 ; 筋機能におけるCa<sup>2+</sup>チャネル系)



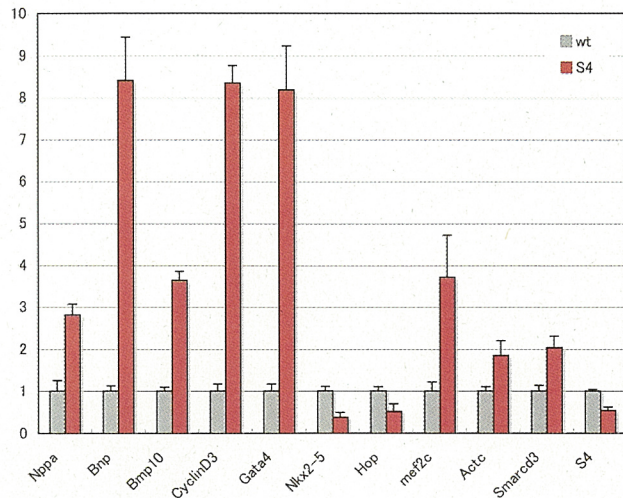
(図7 ; rVISTAによるプロモーター解析)



(図8 ; lucassay法による転写活性評価)

2 : Sall4 deficientマウスによる心機能解析

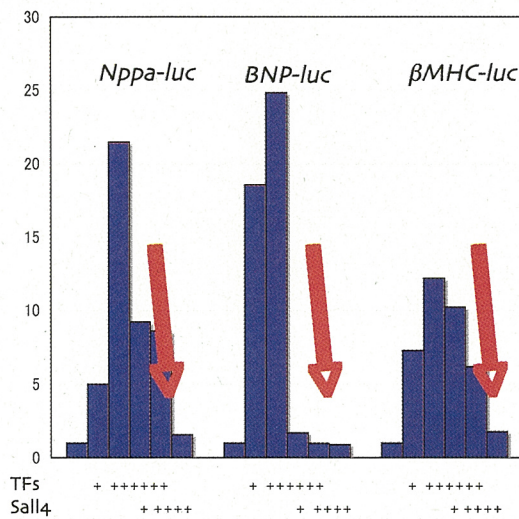
2- 1 ; Sall4下流遺伝子の探索と心肥大マーカー因子の発現変化



(図9：心肥大関連因子の発現定量化)

Sall4ヘテロマウスにおける肥大型心筋症評価のため、アレーで発現変化のあった遺伝子の中で、一般に心肥大マーカーとなる因子について発現の定量化解析を行った(図9)。Nppa、Bnp、Bmp10、Gata4などの心肥大関連遺伝子の顕著な亢進が見受けられた。また、心肥大抑制因子であるHop、nkx2-5の発現が減少していたことから、Sall4は心肥大シグナルカスケードで上流に位置する可能性が考えられる。

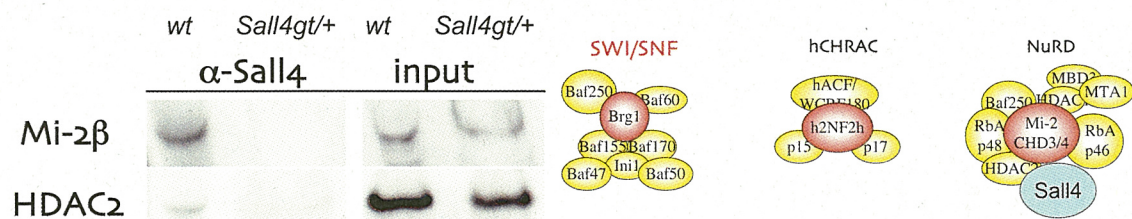
2-2：Sall4の転写活性化の機能



(図10；心臓特異的収縮因子のプロモーター活性)

上記図10において、Nppa、Bnp、bMHCのプロモーターは心臓主要転写因子TFs(Tbx5、gata4、Nkx2-5)によって刺激され発現誘導される。Sall4はこれらの転写活性を著しく減少させることから、抑制型の転写因子として機能していると推測される。

2-3；転写抑制複合体の同定



in vivo coIPの結果から、Sall14は成体心筋において転写抑制因子HDAC、抑制型クロマチンリモデリング複合体コア因子Mi-2bよ会合していることが明らかとなった。

#### 4. 考察 まとめ

以上のことから、ATP依存性のクロマチンリモデリング複合体が肥大型心筋症、拡張型心筋症の発症と密接な関連があることを明らかにした。これは成人以降基礎代謝能が減少してきた際に心肥大が発症する要因にクロマチン関連因子が関与していることを初めて明らかにした研究である。現在、クロマチン因子の量(dose)が心肥大への影響力、または回復に寄与するのかトランスジェニックマウスを用いて解析している。

#### 5. 発表論文、参考文献

1; Yoshimura K, Kitagawa H, Fujiki R, Tanabe M, Takezawa S, Takada I, Furutani Y, Yagi H, Yoshinaga S, Masuda T, Fukuda T, Yamamoto Y, Ebihara K, Y.Li D, Matsuoka R, **Takeuchi J.K.**, Matsumoto T, Kato S. Distinct function of two chromatin remodeling complexes that share a common subunit, Williams syndrome transcription factor. *J.Cell.Biol.*, (2008). In press. 査読有

2; Zhu Y, Gramolini AO, Walsh MA, Zhou Y, Slorach C, Freidberg M, **Takeuchi JK**, Bruneau BG. A Tbx5-dependent pathway regulating diastolic function in congenital heart disease.

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (2008) in press. 査読有

3; Koshiha-Takeuchi K, Sakai Y, Nishinakamura R, Bruneau BG and Takeuchi JK. Chromatin remodelers and Cardihypertrophy; Cardiac zinc-finger transcription factor, *Spalt-like 4*, modulating SWI/SNF-NurD complexes, leads to progressive cardiomyopathy and conduction system disease.

*Nature submitted*