

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：24601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25670393

研究課題名(和文)性差を呈する家族性拡張型心筋症とモデルマウスを対象にした性差誘因機序の解明

研究課題名(英文) Identifying a factor contributing to gender difference in familial dilated cardiomyopathy

研究代表者

齋藤 能彦 (Saito, Yoshihiko)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：30250260

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：循環器系疾患の発症には性差がある。一般的に女性は虚血性心疾患の罹患率が低い、心不全の罹患年齢が高い等が知られている。本研究はその具体的機序を解明することを目的とした。

まず、性差を呈する家族性拡張型心筋症患者の遺伝子変異を解析し、一家系でラミン遺伝子異常が原因であると判明した。性ホルモンに着目すると、通常的心不全では認められない男性ホルモン受容体の心筋細胞核内への移行が認められた。現在ラミン遺伝子ノックアウトマウスを入手し、性差誘因機序をさらに詳しく検討している。今後も引き続き検討を継続し、心疾患医療の進展に貢献したい。

研究成果の概要(英文)：Gender difference is well known in cardiovascular disorder. Prevalence of ischemic heart disease is lower in female, or the age at risk of heart failure is higher in female. In this study, we tried to unveil the mechanism of gender difference in cardiovascular disease.

At first, we analyzed gene mutation in patients with familial dilated cardiomyopathy, and found a mutation in a gene which codes inner nucleus membrane protein, lamin. Next, we focused on sex hormone, and found that androgen receptor accumulated in nucleus of cardiomyocyte only in those who had the mutation. Currently we're still continuing to seek the mechanism of gender difference by utilizing lamin knock out mice. We would like to contribute to the progression of cardiovascular field by studying this gender difference issue more in detail.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：循環器・高血圧 性差

1. 研究開始当初の背景

1990年頃から生物学および医療分野で性差が注目されるようになり、各臓器・組織における生物学的性差や疾患発症と性差の関わりが明らかにされてきた。循環器疾患においても、女性で虚血性心疾患の低発症率、心不全や肥大型心筋症の高罹患年齢などが疫学的に報告され、さらに閉経を境に罹患率が増加することから、女性ホルモン等の効能が指摘されてきた。すなわち女性ホルモンが心筋・血管保護的に働く可能性が報告されているがその具体的な機序はまだ不明な部分が多く、性差を伴う疾患発症機序の解明に遺伝子レベルを含めた根本的解析・検索の必要性が提えられている。

近年、次世代シーケンサーや質量顕微鏡法などの新規解析手法が開発され注目を集めている。これら新技术を、性差を呈する家族性拡張型心筋症と動物モデルを中心とした心筋疾患に適用し、性差誘因機序を解明することにより、循環器系疾患の性差をより網羅的にそしてより根本的に理解することができ、さらには心疾患医療に新しい活路を開くことができると考え、本研究を提案するに至った。

2. 研究の目的

上記のような観点から、本研究では、性差を呈する家族性拡張型心筋症と動物モデルに対して次世代シーケンサーや質量顕微鏡などの新技术を含めた解析方法を適用し、性差誘因機序を根本的に解明することを目的とした。

3. 研究の方法

まず性差を示す拡張型心筋症患者家系の原因遺伝子を次世代シーケンサーを用いて解析する。次に同患者家系の心筋生検組織を用いて質量顕微鏡法により性差を示す生体分子の同定をおこない、心臓におけるこれらの分子の分布、存在比を画像解析する。また、性差を示すことが知られている拡張型心筋症マウスモデルの心筋組織を用いて、同様に質量顕微鏡法による解析を行う。またこのマウスモデルを用いて次世代シーケンサーによる遺伝子転写産物の解析を試みる。得られたデータのうち、質量顕微鏡法の結果と関連するものを選択し、生化学的検討を行う。研究期間内に上記計画を行い、性差を司る分子メカニズムの解明と治療法につながる基礎研究のレベルまで研究を進めることを目指す。

4. 研究成果

性差を呈する家族性拡張型心筋症患者の遺伝子変異を次世代シーケンサーによる全エクソン解析で分析した。その結果、一家系で核膜内側タンパクであるラミン遺伝子に異常が認められた (R225X)。この遺伝子異常はすでに遺伝子変異データベースに拡張型心筋症疾患原因遺伝子変異として登録さ

れており、この遺伝子異常が病因であると判断した。また、この遺伝子変異は従来のサンガー法によるシーケンスでも確認された (図1)。

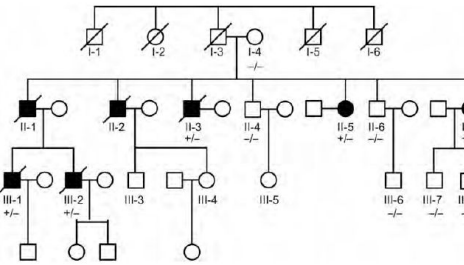


図1. 当該家族性心筋症家系図。黒塗りが拡張型心筋症発症者。+/-は遺伝子異常をヘテロに有する者。-/-は遺伝子異常を有さない者。本家系内では、四角で示す男性発症者の重症度に比し、丸で示す女性発症者の重症度は軽度であった。

この患者家系から得られた心筋生検サンプルを、質量顕微鏡法を用いて解析を行った。コントロールとして、本遺伝子異常を有さない心不全患者心筋組織を解析した。その結果、生体構成リン脂質の主要成分であるフォスファチジルコリンの一種がコントロール心筋に比し、本家系患者心筋組織で低下していることが判明した。

次に、性差誘因機序として性ホルモンに着目し、検討を進めた。その結果、通常的心不全では認められないアンドロゲン受容体の心筋核内への移行がラミン遺伝子異常を有する患者心筋およびマウス心筋双方で認められた (図2)。

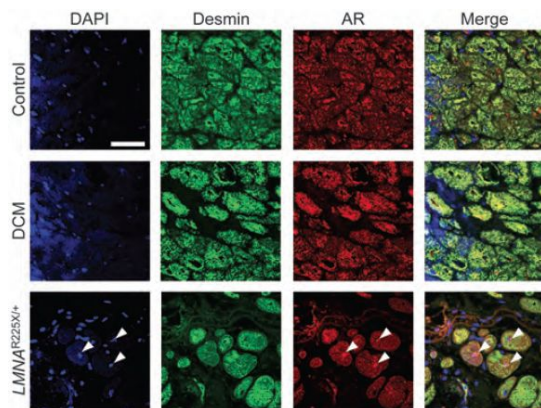


図2; コントロール心筋(Control)およびラミン遺伝子異常以外の拡張型心筋症患者 (DCM) では認められない男性ホルモン受容体 (AR) の心筋細胞核内への集積が、性差を呈するラミン遺伝子異常による拡張型心筋症患者 (LMNA^{R225X/+}) で認められた。

現在ラミン遺伝子ノックマウスを入手し、その心組織を破碎し、RNA、タンパクおよび

脂質を抽出したうえで、性差誘因機序をさらに詳しく検討している。今後も引き続き検討を継続し、心疾患における性差を司る要因を解明するのみでなく、さらなる心疾患医療の進展に貢献したい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計3件)

Arimura T, Onoue K, Takahashi-Tanaka Y, Ishikawa T, Kuwahara M, Setou M, Shigenobu S, Yamaguchi K, Bertrand AT, Machida N, Takayama K, Fukusato M, Tanaka R, Somekawa S, Nakano T, Yamane Y, Kuba K, Imai Y, Saito Y, Bonne G, Kimura A.

Nuclear accumulation of androgen receptor in gender difference of dilated cardiomyopathy due to lamin A/C mutations. Cardiovasc Res. 2013;99(3):382-94.

Okayama S, Nakano T, Uemura S, Fujimoto S, Somekawa S, Watanabe M, Nakajima T, Saito Y.

Evaluation of left ventricular diastolic function by fractional area change using cine cardiovascular magnetic resonance: a feasibility study.

J Cardiovasc Magn Reson. 2013;15:87-92.

Okayama S, Uemura S, Saito Y.

Evaluation of epicardial and intra-myocardial fat in a patient with mitochondrial cardiomyopathy.

Int J Cardiol. 2013;167(2):e43-5.

〔学会発表〕(計3件)

Ueda T, Kawakami R, Sugawara Y, Matsumoto T, Okada S, Soeda T, Okayama S, Somekawa S, Takeda Y, Watanabe M, Kawata H, Uemura S, Saito Y.

Worsening of Renal Function after One Year, Not During Hospitalization, is Stronger Predictor of Prognosis in Patients With ADHF.

American Heart Association Scientific Sessions, 2013/11/16-20, Dallas, USA.

Takeda Y, Uemura S, Matsui M, Matsumoto T, Seno A, Okada S, Nishida T, Soeda T, Okayama S, Somekawa S, Watanabe M, Kawata H, Kawakami R, Saito Y.

Uremic Toxin Aggravates Atherosclerosis by Suppression of Endothelial Soluble Flt-1 Production in CKD

American Heart Association Scientific Sessions, 2013/11/16-20, Dallas, USA.

Kimura A, Arimura T, Onoue K, Ishikawa T, Saito Y.

Molecular Mechanism of Gender Difference in Heart Failure Caused by Lamin A/C Mutations.

日本循環器学会 2014/3/21-23, 東京

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.naramed-u.ac.jp/~1int/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

斎藤 能彦(サイトウ ヨシヒコ)

研究者番号: 30250260

(2)研究分担者

尾上 健児(オノウエ ケンジ)

研究者番号: 90510173

(3)研究協力者

木村 彰方(キムラ アキノリ)

研究者番号: 60161551

(4)研究協力者

瀬藤 光利(セトウ ミツトシ)

研究者番号: 20302664

(5)研究協力者

重信 秀治 (シゲノブ シュウジ)

研究者番号： 30399555