

平成 22 年 4 月 30 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2008～2009

課題番号：20890115

研究課題名（和文）TSP1 遺伝子多型情報を心不全 β 遮断薬個別化医療に応用するための科学的基盤の構築

研究課題名（英文）The association between TSP1 polymorphism and treatment efficacy of heart failure

研究代表者

南 畝 晋平 (NONEN SHINPEI)

兵庫医療大学・薬学部・講師

研究者番号：40467527

研究成果の概要（和文）：本研究では、心不全治療における β 遮断薬反応性の個人差に TSP1 Thr523Ala 遺伝子多型が関与するか、また、この遺伝子多型が TSP1 の機能や発現量に影響を及ぼすかを検討した。その結果、(1) TSP1 Thr523Ala 遺伝子多型の Ala/Ala 型の心不全患者で β 遮断薬のレスポンス率が高いこと (2) 523Thr 型に比べて 523Ala 型では TSP1 タンパク発現量が少なく、その原因がタンパク質の翻訳効率の差にあることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：I investigate the association between inter-individual variability of β -blocker responsiveness in heart failure and TSP1 Thr523Ala polymorphism. I also perform *in vitro* functional analysis of TSP1 Thr523Ala. TSP1 Thr523Ala was associated with response to β -blockers in heart failure. Ala-523 TSP1 construct was lower in protein expression and translation efficacy than Thr-523 TSP1 construct.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,340,000	402,000	1,742,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,540,000	762,000	3,302,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：心不全、 β 遮断薬、TSP1、遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

アドレナリン β 受容体遮断薬（以下 β 遮断薬）は、心不全治療において必須の薬剤として位置づけられている。しかし、その治療反応性には個人差が存在し、非反応群（ノンレスポンス）への投与は心不全を悪化させる。さらに β 遮断薬反応性

の判定には約 6 ヶ月という長期間の観察が必要なことから、 β 遮断薬の反応性を投与前に予測し、個々に適した β 遮断薬治療を行う必要がある。

研究代表者はこれまでに、(1) 心不全モデルマウスのマイクロアレイにより、不全心においてトロンボ

スポンジン 1 (Thrombospondin 1; TSP1)の発現が上昇すること、(2)TSP1の遺伝子多型 Thr523Ala の 523Thr 型、523Ala 型のタンパク質を細胞株に強制発現させたところ、523Ala 型において著しくタンパク量が少ないことを明らかにした。

2. 研究の目的

本研究では、(1)心不全患者を対象に、 β 遮断薬のレスポナー/ノンレスポナーが TSP1 Thr523Ala 遺伝子多型と関連するか(臨床ゲノム薬理的検討)、(2)強制発現系による 523Thr 型、523Ala 型の TSP1 タンパク量の差が、①タンパク質の安定性、② mRNA の安定性、③翻訳効率の差のどれに起因するか(分子生物学的検討)、を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 臨床ゲノム薬理的検討

β 遮断薬が投与されている拡張型心筋症患者 109 名を対象に、末梢血からゲノム DNA を取得した。PCR-RFLP 法により、各被験者における TSP1 Thr523Ala 遺伝子型を判定した。

β 遮断薬の反応性は、左室内径短縮率(LVFS)を指標とした。LVFS は、心臓超音波検査で測定され、左室収縮機能の指標となる。 β 遮断薬投与前及び投与 1.5 年以上経過後の LVFS を心臓超音波検査により算出し、改善度： $\Delta = (\beta$ 遮断薬投与後の検査値) - (β 遮断薬投与前の検査値) として、 Δ FS $\geq 3\%$ の被験者をレスポナー、 Δ FS $< 3\%$ の被験者をノンレスポナーとした。

TSP1 Thr523Ala 各遺伝子型

(Thr/Thr、Thr/Ala、Ala/Ala)でのノンレスポナーの割合を比較した。

(2) 分子生物学的検討

ヒト白血球より抽出した RNA からの逆転写反応で得られた cDNA を鋳型とし、TSP1 全長を PCR により増幅した。得られたフラグメントを pcDNA3.1(+) にサブクローニングすることにより 523Thr 型、523Ala 型の発現プラスミドを作製した。

TSP1 タンパク質安定性の検討には、トランスフェクション 48 時間

後の細胞にタンパク質合成阻害剤として cycloheximide を 35.5 μ M で処置し、経時的に細胞を回収した。ウェスタンブロットにより、TSP1 タンパクの分解度合いを検討した。

TSP1 mRNA 安定性の検討には、トランスフェクション 24 時間後の細胞に RNA 合成阻害剤として actinomycin D を 5 μ g/mL で処置し、経時的に細胞を回収した。ノザンブロットにより、TSP1 mRNA の分解度合いを検討した。

翻訳効率の差の検討は、ウサギ網状赤血球無細胞翻訳系に 523Thr 型または 523Ala 型の TSP1 cDNA 全長を加え、翻訳反応後の TSP1 タンパク量をウェスタンブロットにより比較した。

4. 研究成果

(1) 臨床ゲノム薬理的検討

TSP1 Thr523Ala 遺伝子多型と β 遮断薬反応性との関連を図 1 に示した。ノンレスポナー率はそれぞれ、AA 群 26.9%、AG 群 20.9%、GG 群 0%であり、A アレルを持つ患者群では GG 群と比較してノンレスポナーである確率が有意に高く (AA + AG vs. GG, $p=0.038$)、 β 遮断薬の反応性に関与することが示唆された。

(2) 分子生物学的検討

TSP1 Thr523Ala 遺伝子多型は、TSP1 タンパク質及び TSP1 mRNA の安定性には関与しなかった。しかし、523Thr 型の方が 523Ala 型に比べ TSP1 翻訳量が多かった。すなわち、TSP1 Thr523Ala 多型は TSP1 の翻訳に影響を及ぼすことが示唆された。

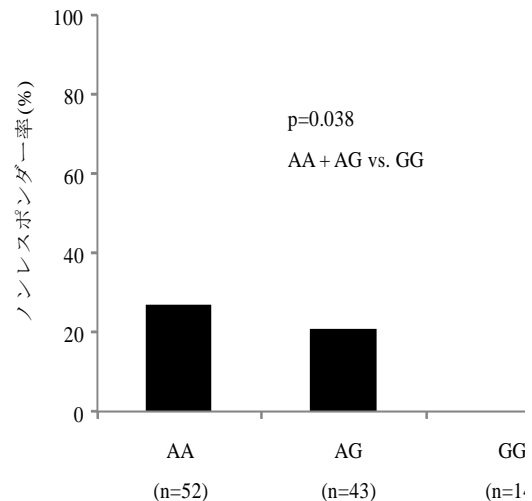


図 1 TSP1 Thr523Ala (A1746G)
遺伝子型間のβ遮断薬ノンレス
ポonder率の比較

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計2件)

(1)第29回日本臨床薬理学会年会
平成20年12月6日 京王プラザ
ホテル(東京)

心不全治療におけるβ遮断薬反応
性の個人差とThrombospondin1遺
伝子多型との関連

上野由香子, 南畝晋平, 岡本洋, 藤尾
慈, 竹本恭彦, 葭山稔, 寺崎文生, 大
塚薫, 岩尾洋, 東純一

(2)第2回次世代を担う若手医療薬
科学シンポジウム 平成20年12
月21日 京都大学薬学部記念講堂
心不全治療におけるβ遮断薬反応
性の個人差とThrombospondin1遺
伝子多型との関連

南畝晋平, 上野由香子, 岡本洋, 藤尾
慈, 竹本恭彦, 葭山稔, 寺崎文生, 大
塚薫, 岩尾洋, 東純一

6. 研究組織

(1)研究代表者

南畝晋平 (NONEN SHIPEI)

兵庫医療大学・薬学部・講師

研究者番号: 40467527