

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2015

課題番号：24791092

研究課題名(和文) ダウン症候群における肺高血圧症危険因子の探索

研究課題名(英文) Investigation into risk factors of pulmonary hypertension in Down syndrome

研究代表者

岸 勘太(Kishi, Kanta)

大阪医科大学・医学部・助教

研究者番号：20408503

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：先天性心疾患を伴うダウン症候群児は、潜在的に肺高血圧症を合併するリスクを有する。BMP2シグナルの異常は、肺高血圧症の危険因子である。本研究では、ダウン症候群関連たんぱく質群(DYRK1AとRCAN1)とBMP2との関連を検討した。BMP2シグナルはDYRK1A発現に影響した。この結果から、BMP2シグナルとDYRK1Aは関係している可能性が示唆された。この関係を解明するためにさらなる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：Down syndrome with congenital heart diseases has potential for early development of pulmonary hypertension. Dysregulation of bone marrow protein (BMP)2 signaling is responsible for pulmonary hypertension. In the current study, we examined the relationship between BMP2 signaling and Down syndrome related proteins including dual specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 1A (DYRK1A) and regulator of calcineurin (RCAN)1. In vitro study, BMP2 signaling affected expression of DYRK1A. This finding suggests the relationship between BMP2 signaling and DYRK1A. Further study will be needed to clarify this issue.

研究分野：小児循環器

キーワード：ダウン症候群 肺高血圧

1. 研究開始当初の背景

肺高血圧症は、特発性あるいは先天性心疾患などを原疾患として、肺動脈圧が上昇した病態である。肺動脈の閉塞性病変を主体とし、右心不全の進行により予後不良の転帰をとる。病理学的には、中膜肥厚、内皮細胞の異常増殖、内膜肥厚、小動脈の筋性化、血栓、外膜肥厚、炎症性細胞浸潤を認める。近年、小児肺高血圧症の治療法が確立されつつあり、種々の治療法が考案されている。しかし、本病態の根本的治療までには至らず、さらなる創薬を含めた治療戦略も重要課題である。

21 番染色体 3 倍体を伴う染色体異常症であるダウン症候群は、先天性心疾患を伴いやすい。さらに先天性心疾患を有するダウン症患者では、肺高血圧症を合併することが知られている。すなわち、ダウン症候群は、肺高血圧症の危険因子でもある。しかし、ダウン症候群の肺高血圧症の進行メカニズムについての研究は皆無である。本研究では、ダウン症候群に関係の深い遺伝子群の発現が、BMP 細胞内シグナル伝達において、どのように変化するかを検討した。

2. 研究の目的

BMPR2 (Bone Morphogenetic Protein Receptor) は、特発性肺動脈性肺高血圧症の責任遺伝子のひとつである。すなわち、BMP シグナル系は、肺血管内皮細胞の正常維持に重要な原因な役割を果たすと考えられる。また、21 番染色体に存在する 2 つの遺伝子 (DYRK1A: dual specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 1A および RCAN1: regulator of calcineurin 1) の過剰な遺伝子増加が、肺血管内皮細胞の細胞内情報伝達に相互に影響を与える可能性がある。そこで、今回我々は、培養細胞を用いて、BMP の情報伝達が DYRK1A および RCAN1 遺伝子発現に与える影響および相互作用について検討した。

3. 研究の方法

初代正常肺血管内皮細胞 Human Pulmonary Artery Endothelial Cells (HPAEC, Cell Applications Co.) および FLC-5 培養細胞 (肝癌) を用いて、添加実験を行った。各々の培養細胞 (1X10⁶ 個/well) に BMP2(100ng/ml) を添加し、48 時間培養した。その後、培養細胞から RNA を抽出し、real-time PCR 法 (SYBER Green 法、LightCycler、F. Hoffmann-La Roche Ltd. Diagnostics, Basel) にて下記の遺伝子群を発現を検討した。発現量を確認した遺伝子は、DYRK1A、RCAN1、BMPR2、inhibitor of DNA binding 1 (ID1) および β -actin 遺伝子 (すべてヒト) である。なお各遺伝子のコピー数は β -actin のコピー数にて補正した。

4. 研究成果

FLC-5 培養細胞に BMP2 添加したところ、ID1 遺伝子発現は上昇し、BMP2 の細胞情報伝達を確認できた (図 1)。また、BMPR2 の発現には変化を認めなかった。なお、初代正常肺血管内皮細胞における検討はうまくいかなかった。また、21 番染色体に存在するダウン症候群関連たんぱく質 (DYRK1A および RCAN1) の発現については、RCAN1 は変化を認めなかったが、DYRK1A 発現の抑制を認めた (図 2)。

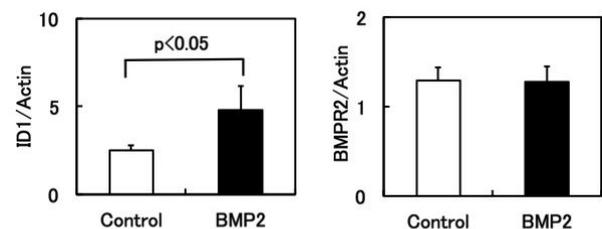


図1 ID1およびBMP2の遺伝子発現

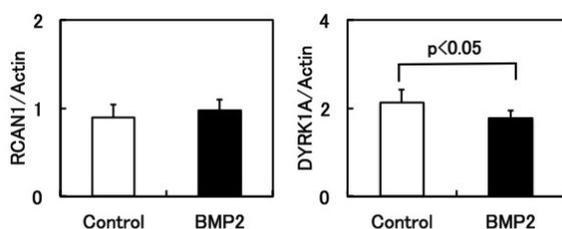


図2 RCAN1およびDYRK1Aの遺伝子発現

DYRK1A はセリン/スレオニンキナーゼであり、この酵素の過剰活性化はダウン症候群の病因の1つと考えられる。すなわちダウン症候群の病態において、DYRK1A の発現量が非常に重要と思われる。本研究において、BMP 2 シグナルが DYRK1A の発現量に影響することが見いだされた。すなわち、BMP 2 シグナルにおいて、DYRK1A も重要な役割を有しているかもしれない。BMP 2 シグナルと DYRK1A 発現量の不均衡がダウン症候群の病態に関与している可能性が考えられた。

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 6 件)

1) Takitani K, Miyazaki H, Koh M, Kishi K, Inoue A, Tamai H.

Dehydroepiandrosterone alters retinol status and expression of the β -carotene 15, 15'-monooxygenase and lecithin:retinol acyltransferase genes.

J Nutr Sci Vitaminol. 62, 2016, 12-8. 査読有
doi: 10.3177/jnsv.62.12.

2) Mori Y, Katayama H, Kishi K, Ozaki N, Shimizu T, Tamai H.,

Persistent high fever for more than 10 days during acute phase is a risk factor for endothelial dysfunction in children with a history of Kawasaki disease.

J Cardiol. (in press) 査読有

doi: 10.1016/j.jjcc.2015.08.008.

3) Takitani K, Inoue K, Koh M, Miyazaki H, Inoue A, Kishi K, Tamai H.

Altered retinol status and expression of retinol-related proteins in streptozotocin-induced type 1 diabetic model rats.

J Clin Biochem Nutr. 56, 2015, 195-200. 査読有

doi: 10.3164/jcbtn.14-113.

4) Sugimoto A, Kurokawa T, Kishi K, Yasuda E, Tamai H, Moriwaki S.

Generalized milia in an infant with full trisomy 13.

J Dermatol. 41, 2014, 763-4. 査読有

doi: 10.1111/1346-8138.12550.

5) Miyazaki H, Takitani K, Koh M, Inoue A, Kishi K, Tamai H.

Retinol status and expression of retinol-related proteins in methionine-choline deficient rats.

J Nutr Sci Vitaminol. 60, 2014, 78-85. 査読有

6) Takitani K, Inoue K, Koh M, Miyazaki H, Kishi K, Inoue A, Tamai H.

α -Tocopherol status and altered expression of α -tocopherol-related proteins in streptozotocin-induced type 1 diabetes in rat models.

J Nutr Sci Vitaminol. 60, 2014, 80-6. 査読有

doi: 10.3177/jnsv.60.380.

〔学会発表〕(計 9 件)

1) 岸 勘太

第 51 回 日本小児循環器学会総会、2015 年 7 月 16 日、ホテル日航東京 (東京)

18 トリソミー児において根治術により良好な肺循環が獲得され予後が改善される。

2) 岸 勘太

第 29 回 日本小児循環器学会 近畿・中四国地方会、2015 年 3 月 8 日、大阪市立総合医療センター (大阪)

Unguarded mitral orifice の一例。

3) 岸 勘太

第 21 回 日本小児肺循環研究会、2015 年 1 月 31 日、笹川記念会館（東京）

根治術を施行した 18 トリソミーにおける肺循環。

4) 岸 勳太

第 50 回 日本小児循環器学会総会、2014 年 7 月 3 日、岡山コンベンションセンター(岡山)
修復前のファロー四徴症では NT pro-BNP は左心機能を反映する。

5) 岸 勳太

第 49 回 日本小児循環器学会総会、2013 年 7 月 11 日、国立オリンピック記念青少年総合センター（東京）

18 トリソミー合併の心室中隔欠損症では肺動脈絞扼術後に右室拡張能低下をきたす。

6) 岸 勳太

第 27 回 日本小児循環器学会 近畿中四国地方会、2013 年 3 月 3 日、大阪市立総合医療センター（大阪）

成長ホルモン補充療法を併用した拡張型心筋症を合併したターナー症候群の 1 例。

7) 岸 勳太

第 26 回 日本小児脾臓研究会、2013 年 3 月 9 日、大阪ガーデンパレス（大阪）

Streptococcus gallolyticus subsp. pasteurianus による細菌性髄膜炎を発症した無脾症の新生児例。

8) 岸 勳太

第 48 回 日本小児循環器学会総会、2012 年 7 月 5 日、国立京都国際会館（京都）

心手術を施行した先天性心疾患に合併した左室緻密化障害の臨床像。

〔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.osaka-med.ac.jp/deps/ped/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

岸 勳太 (KISHI, Kanta)
大阪医科大学・医学部・助教
研究者番号：20408503