

審査の結果の要旨

氏名 瀧本 英樹

本研究は、心臓の発生および心臓の分化に必須の組織特異的転写因子である *Csx/Nkx2-5* の成人期における役割を明らかにするため、発生工学の手法を用いて野生型 *Csx/Nkx2-5* を過剰発現させた gain of function 型のマウスおよびドミナントネガティブ *Csx/Nkx2-5* を過剰発現させた loss of function 型のマウスという 2 種類の相反するモデルを作成し、心機能、組織、RNA の解析を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. 野生型 *Csx/Nkx2-5* トランスジェニックマウスにおいてトランスジーンが発現は心臓、骨格筋、脳にこの順で多く発現していた。心筋では *ANP*, *BNP*, *CARP*, *MLC2v* の遺伝子発現が亢進しており *Csx/Nkx2-5* の下流にある遺伝子であることが示された。とりわけ *ANP* の発現は非常に亢進しており、電顕上左室心筋には通常は存在しない分泌顆粒が認められた。また骨格筋では *Csx/Nkx2-5* が過剰に発現しているにもかかわらず *ANP* の発現は認められなかった。このことから *Csx/Nkx2-5* のみでは心臓のフェノタイプを骨格筋に導入できない、つまり *Csx/Nkx2-5* のみでは心臓発生のプログラムを活性化することができないことが示された。
2. ドミナントネガティブ *Csx/Nkx2-5* トランスジェニックマウスでは心機能が低下し、心筋の間質に線維化が認められた。さらに電顕上は筋原線維の減少と、ミトコンドリアの増加を認めた。この結果から成人期において *Csx/Nkx2-5* が心機能および心筋構造の維持に必須であることが示された。
3. *Csx/Nkx2-5* が心筋保護作用をもつかどうかを調べるため、心毒性を有する薬剤であるアドリアマイシンをこれら遺伝子改変マウスに投与し、急性期（24 時間後）の心機能の変化及び組織変化を調べた。野生型 *Csx/Nkx2-5* トラン

スジェニックマウスでは心機能の有意な低下は認めず、電顕上も心筋の障害はコントロールに比べて軽度であった。しかしドミナントネガティブ *Csx/Nkx2-5* トランスジェニックマウスは心機能がコントロールよりも低下し、電顕上も高度の心筋障害が認められた。またアドリアマイシンの心毒性はアポトーシスの誘導によると考えられているが、心筋組織での TUNEL 陽性細胞はドミナントネガティブ *Csx/Nkx2-5* トランスジェニックマウス、コントロール、野生型 *Csx/Nkx2-5* トランスジェニックマウスの順で多かった。このことから *in vivo* において *Csx/Nkx2-5* はアポトーシスを抑制することによる心筋保護作用をもつことが示された。

4. これらの *in vivo* における結果を *in vitro* で確認するため、ラット培養心筋細胞に野生型 *Csx/Nkx2-5* とドミナントネガティブ *Csx/Nkx2-5* をトランスフェクトし、アドリアマイシンによる負荷を与えたところコントロール細胞の TUNEL 陽性細胞は 24% 程度であったが、ドミナントネガティブ *Csx/Nkx2-5* をトランスフェクトした細胞では 70%、野生型 *Csx/Nkx2-5* をトランスフェクトした細胞では 10% 以下であり、*Csx/Nkx2-5* が直接的な心保護作用を持つことが *in vitro* で示された。

以上、本論文は 2 種類の遺伝子改変マウスを用いて、これまで発生時期での役割が注目されていた心筋特異的転写因子 *Csx/Nkx2-5* が成人期においても正常な心筋構造の維持、心機能の維持、心筋特異的遺伝子の発現調節、心保護といった役割を持つことを明らかにした。本研究は、これまでまったく不明であった転写因子 *Csx/Nkx2-5* の成人期における働きの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。