

審査の結果の要旨

氏名 天木 幹 博

本研究は、心血管リモデリングを転写レベルで制御すると考えられるBTEB2/KLF5のin vivoでの意義を明らかにするため、ノックアウトマウスを作成し病態モデルにおける解析を行い、また、心血管リモデリングを修飾する液性因子と考えられるKlothoの分子機構の解明を進めたものであり、下記の結果を得ている。

1. BTEB2/KLF5ノックアウトマウスホモ接合体は発生早期に致死であった。成体が得られたヘテロ接合体 (BTEB2/KLF5 +/-) において、ノーザンブロットによりBTEB2/KLF5の発現が低下していることが確認された。
2. 血管機能を評価するため、大動脈リング標本において薬剤による反応を検討したところ、12ヶ月齢の加齢マウスでは、BTEB2/KLF5 +/-において、アセチルコリン (Ach)、アドレノメデュリンに対する血管弛緩反応、エンドセリン-1、アンギオテンシン IIに対する血管収縮反応とも野生型に比べ低下していた。
3. 血管傷害及び炎症時の血管リモデリングにおけるBTEB2/KLF5の役割を検討するため、病態モデルを作成して解析を行った。大腿動脈内膜剥離血管傷害モデルでは、野生型と比較して、BTEB2/KLF5 +/-において新生内膜肥厚が有意に抑制されていた。大腿動脈カフ傷害モデルでは、BTEB2/KLF5 +/-において、炎症に伴う線維性組織の増殖、新生内膜形成、外膜における反応性微小血管の形成が低下していた。BTEB2/KLF5が傷害に対する間葉系細胞の反応に関与していることが示された。また、下肢動脈結紮モデルで血流回復を測定したところ、BTEB2/KLF5 +/-では血流回復の遅延が認められ、BTEB2/KLF5が虚血に伴う血管新生に関与していることが示された。

4. 心リモデリングの検討のために持続的Ang II負荷実験を行ったところ、野生型では心筋細胞の肥大と間質の線維化、冠動脈周囲の線維化が認められたが、BTEB2/KLF5 +/- ではいずれの反応も著明に低下しており、BTEB2/KLF5が心リモデリングにおいても重要な役割を果たしていることが示された。一方、急性傷害応答の検討のために行った腸間膜動脈虚血再灌流傷害モデルでは、BTEB2/KLF5 +/-で傷害性変化が強く現れ、急性傷害に対する応答においてはBTEB2/KLF5が保護的に働いている可能性が示された。

5. 心血管リモデリングを修飾する液性因子と考えられるKlothoの作用機序を検討するため、膜型Klothoの全長を発現するアデノウイルス及びpartialのアデノウイルスを作製した。Ach投与による内皮依存性血管拡張反応は、野生型と比較し、*klotho*遺伝子変異マウスヘテロ接合体 (Klotho +/-) において低下していた。膜型*klotho*遺伝子を組み込んだアデノウイルスを筋注投与したところ、膜型Klothoの全長では野生型と同程度まで血管拡張反応の改善がみられ、N末274アミノ酸を発現するpartialのものでは改善がみられなかった。

6. Klothoの血管新生への影響を検討するために下肢動脈結紮モデルで血流回復を測定したところ、Klotho +/-では、野生型に比べ虚血肢の血流の回復の遅延が認められた。Klothoは、虚血にともなう血管新生については促進する方向に働いている可能性が示された。

7. センダイウイルスを用いてKlothoを導入してシグナルの検討を行った結果、Klothoの導入により、コントロールと比較してeNOSのリン酸化の増強が認められ、Klothoの細胞内シグナルはeNOSのリン酸化を介している可能性が示された。

以上、本論文は、遺伝子改変マウスを用いた検討から、BTEB2/KLF5が傷害応答としての心血管リモデリングを正の方向に転写制御していることを明らかにした。一方Klothoが、血管内皮機能を改善することでリモデリングを抑制する方向に修飾している可能性を示し、これまで全くわかっていなかった細胞内シグナルの一部を明らかにした。当研究は、BTEB2/KLF5, Klothoの心血管リモデリングにおける役割の解明、血管障害・動脈硬化に対する臨床応用につながる非常に貢献度の高い研究であり、学位の授与に値するものと考えられる。