

審査の結果の要旨

氏名 河原崎秀一

本研究は心臓の線維化において重要な役割を果たしていると考えられる転写因子 ARID5B に着目し、ARID5B の心臓の線維化における役割を明らかにするため、ARID5B 遺伝子改変マウスに Angiotensin II を持続投与し、惹起される線維化について解析を行い、詳細なメカニズムの検討を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. ARID5B 遺伝子変異ヘテロ接合型マウスに Angiotensin II を 14 日間持続投与したところ、遺伝子変異群では野生型に比較し、左心室の壁肥厚は高度であり、より高度な線維化の進行を認めた。mRNA レベルでは線維化のマーカーとして fibronectin の発現が ARID5B 遺伝子変異群で野生型よりも有意に上昇していた。免疫染色での検討では ARID5B 遺伝子変異群においてより高度なマクロファージの集積を認めた。ARID5B 遺伝子変異ヘテロ接合型マウスにおいて、より高度な線維化の進行、マクロファージの集積を認めたことより、ARID5B は心臓の線維化の進行を抑える役割を果たしていることが示された。
2. 野生型マウスに放射線照射を行った上で ARID5B 遺伝子変異ヘテロ接合型マウスの骨髄を移植した。ARID5B 遺伝子変異を持つ血球細胞が定着したことを確認した上で、このマウスに Angiotensin II の持続投与を行ったが、ARID5B 遺伝子変異群では対照群と比較し、左室肥大、線維化の程度は同程度であった。この結果より、血球細胞での ARID5B の遺伝子変異が線維化の進行に与える影響は限定的であることが示された。
3. マウス線維芽細胞 10T1/2 に TGF- β を添加する実験系に着目した。10T1/2 は未分化な線維芽細胞だが、TGF- β の添加により、 α SMA アクチンなど平滑筋マーカーが上昇することが報告されている。10T1/2 への ARID5B の siRNA のトランスフェクションを行い ARID5B のノックダウンを行い、この細胞に TGF- β を添加し、mRNA レベルでの刺激への応答反応を検討した。結果、 α SMA、CTGF といったマーカーは ARID5B のノックダウン群および対照群とともに上昇しており両者には有意差は認められなかった。マウス新生仔初代培養細胞の心線維芽細胞に対して同様に ARID5B の siRNA を用いた ARID5B のノックダウンを行った上で TGF- β の刺激を行ったが、やはり非ノックダウン

群と同様の反応を示した。この結果より ARID5B のノックダウンを行った線維芽細胞においても TGF- β 刺激に対する反応性には明らかな変化は認められないことが示された。

4. ARID5B 遺伝子変異型マウスに 2 週間の Angiotensin II 投与を行い、繊維化を起こした心臓切片に TUNEL 染色を行った。結果、ARID5B 遺伝子変異ヘテロ接合群において野生型よりもアポトーシスを起こした細胞数が多いことが確認された。これより、ARID5B 遺伝子変異群では Angiotensin II 投与後に心筋細胞の細胞死が増加しており、この結果創傷治癒反応としての繊維化がより高度に起こったと考えられた。

以上、本論文は ARID5B 遺伝子改変マウスに Angiotensin II を投与し惹起される心臓の繊維化を解析した結果より、ARID5B が心臓の繊維化において保護的に働くことを明らかにした。本研究は心臓の繊維化に保護的に働く転写因子を新たに見出し、今後新たな繊維化の治療法の開発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。