

研究課題別研究評価

1．研究課題名：心臓が大きく強くなるしくみの研究

2．研究者氏名：阪本英二

3．研究のねらい

心臓は、個体が生まれてから死ぬまで動き続ける驚異的な臓器である。重症な心臓病拡張型心筋症)あるいは高血圧を自然発症するモデル動物の解析を通じ、この心臓に固有な恒常的収縮を支えるメカニズムの解明を目指した。また、用いたモデル動物に合併する興味深い遺伝子異常についての解析も試みた。

4．研究結果及び自己評価：

1) 拡張型心筋症ハムスターに存在する第二原因遺伝子の同定とT管の支持構造の発見

心筋症ハムスターのプロトタイプである BIO14.6(B) は残存心筋の肥大を伴うが、そこから重症な拡張型を呈する TO-2(T) が分離された。本研究者は、心筋症の共通原因遺伝子として -sarcoglycan(dystrophin 結合タンパク質の一つ)を同定し、T には心筋症の重症化遺伝子が存在するとの仮説を立てた(招待講演1)。

Tでは予想に反し、心筋肥大に関連する遺伝子の発現はBより亢進していた。透過型電子顕微鏡の観察で、Tでは心筋の筋原線維内にあるZ線が脆弱であること、筋形質膜がZ線に陥入した構造であるT管の数が減っていること、を見出した。因みに、骨格筋のT管はZ線ではなく、サルコメアのより中央に陥入する。Z線タンパク質の解析から、Tでは加齢と共に desmin タンパク質が徐々に脱落し、そのcDNAには191番目の alanineを threonineに変える missense mutation (G571A)が存在することを証明した(特許3)。

次に、TではT管の数が少ないことから、T管は desmin を基盤としてZ線に支持されているのではないかと予想し、T管の支持分子としての desmin 結合タンパク質を yeast two-hybrid system を用いて探索した。候補として上がった分子量約160kDaの desmuslin 分子は、in vitro の結合実験でも、desmin と結合することを確認した。Desmuslin は、ごく最近 -dystrobrevin(dystrophin 結合タンパク質の一つで、sarcoglycans と直接結合する)に結合するタンパク質として単離されたものである。ところで私は、dystrophin とその結合タンパク質は正常では筋形質膜のみでなくT管にも存在すること、またTでは加齢と共にT管の -dystrobrevin が優先的に脱落することを免疫蛍光染色で見出していた。以上を総合すると、心筋のT管とZ線は、sarcoglycans -dystrobrevin desmuslin- desmin というタンパク質複合体で架橋されていると考えられる。拡張型心筋症ハムスターTO-2では、Z線上の desmin 遺伝子とT管上の -sarcoglycan 遺伝子に double mutation が起きた結果、両者で架橋されるT管とZ線との分子構造が世界で初めて明らかになった。哺乳類の遺伝子は約3万個であるから、この double mutation が起きる確率は約10の9乗分の1。まさに奇跡である。苦しみながらの3年間だったが、初志貫徹して本当に良かった。あと少し追加実験をし、一本の論文にまとめたい(招待講演2)。

2) 心筋肥大誘発分子のスクリーニング系の開発

ヒトの心臓由来の細胞株を用いた 心筋肥大誘発分子のハイスループットなスクリーニング系を開発した(特許2)。今後、このシステムで実際に新規生理活性物質を発見し、ポストゲノム時代に一花咲かせたい。

3) 高血圧ハムスターの導入と初期解析

高血圧は心臓肥大の最大の原因であると同時に、脳卒中、動脈硬化、腎不全など万病のもとであり、血圧調節のメカニズムの解明は医学的に極めて重要である。そこで私は、20年以上前に発見された高血圧ハムスターに注目し、薬理学的予備実験を行った（契約1）。その結果、恐らく single mutation である高血圧ハムスターは、少なくとも2つ以上の降圧系（renin-angiotensin 系、endothelin 系など）が発症に関与していることが明らかになり、その遺伝的異常は血圧感知・調節機構に存在すると予想した。連鎖解析を基本とした戦略で高血圧の原因遺伝子を同定するため、高血圧ハムスターと遺伝的に最も遠い ACN ハムスターとの大規模な交配を今月から開始する。また、endothelin による心筋調節機構の解明も行った（論文2）。

4）心筋症ハムスターに合併する遺伝子異常の解明

「心筋症」ハムスターには様々な遺伝子異常が合併する。すなわち、加齢と共に眼が黒くなるアルビノ（特許1）、拡張型心筋症（特許3）、イントロンにおける4塩基の deletion のために途中のエクソンを飛ばしてスプライスが起きる遺伝子の発見（unpublished）、などである。は、肥大型（B）と拡張型心筋症ハムスター（T）に共通、はTのみ、はBのみである。

このことから、心筋症ハムスターにおける共通のゲノム欠失領域（論文1）には、心筋症遺伝子に加え、“mutation suppressor gene”が存在することを予想し、当該領域（30,167塩基）の全塩基配列を決定した。今後、“mutation suppressor gene”を発見したい。

5．領域総括の見解

遺伝的な心臓病のひとつである拡張型心筋症の原因遺伝子を求めて3年間トライアル・エラーを繰り返しているうちに、ハムスターから、筋原繊維のZ線構造が弱化していることに気づき、その構造に関与する2つの遺伝子変異が突き止められた。これは、遺伝的心臓病の一つの病因を明らかにするのみならず、正常心筋の微細構造の機能解明に大きく貢献するものである。努力に努力を重ねて、新知見をもたらした本人の意気を高く評価したい。

6．主な論文等（：さがけ研究を代表するもの）

論文1．A.Sakamoto, M. Abe, T. Masaki. "Delineation of genomic deletion in cardiomyopathic hamster." FEBS Lett. 447, 124-128, 1999.

論文2．K. Ono, H. Masumiya, A. Sakamoto, G. Christe, T. Shijuku, H. Tanaka, K. Shigenobu and Y. Ozaki. "Electrophysiological analysis of the negative chronotropic effect of endothelin -1 in rabbit SA node cells." J. Physiol. 537: 467-488, 2001.

招待講演1．阪本英二、阿部誠、眞崎知性 「心筋症の分子生物学」第25回日本医学会総会（99年4月）

招待講演2．阪本英二「心筋症ハムスターの原因遺伝子と病態」第78回日本生理学会（02年3月）

特許1．「眼皮膚白子症1Bの原因遺伝子とその応用」公開特許公報 特開 2001-112483

特許2．阪本英二 「マーカー遺伝子を用いた生体機能分子の評価並びに同定方法」特願 2001-327576

特許3．阪本英二 「拡張型心筋症の原因となる新規突然変異を有するデスミン遺伝子」特願 2001-345491

契約1．高血圧ハムスターのコロニーをカナダの breeder へ譲渡。