

審査の結果の要旨

氏名 松田 淳

本研究は心臓の圧負荷応答プロセスにおいて重要な役割を果たしていると考えられる心臓組織マクロファージの機械的刺激受容体を、マウスのマクロファージ不死化細胞 (RAW264.7) に周期的な伸展刺激を与える系を用いて探索したものである。さらに、発見した候補遺伝子を骨髄球由来細胞特異的にノックアウトし、その表現型の解析をも試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マウスマクロファージ不死化細胞 RAW264.7 に周期的な伸展刺激を与えた後に RNA を採取し、定量的リアルタイム RT-PCR で評価すると、心臓組織マクロファージの心保護作用を担うと考えられている遺伝子・*Areg* の転写が活性化されていることを示した。非選択的な陽イオンチャネルの遮断や細胞骨格の重合阻害はこの反応を抑制することができなかったのに対し、ヘミチャネルの遮断薬であると同時に分子 X のアゴニストでもある物質 A の投与はこの反応をさらに活性化させていた。そのため、RAW264.7 において遺伝子 X のノックダウンを試みると *Areg* の発現は伸展前、伸展後ともに有意に低下し、同遺伝子が *Areg* の発現調節に関与することが示された。
2. 骨髄球由来細胞特異的に遺伝子 X をノックアウトするコンディショナルノックアウトマウス、 $X^{\text{flox/flox}}$, $LysMCre^{+/wt}$ を作成し、本マウスから採取・培養した骨髄由来マクロファージで同遺伝子が 78% 欠失していることを定量的リアルタイム PCR で確認した。本マウスは既報の全身ノックアウトマウスと異なり、*littermate control* の $X^{\text{flox/flox}}$, $LysMCre^{wt/wt}$ マウスとほぼ同数出生して離乳を迎え、その後の体重経過もほぼ同様であった。
3. $X^{\text{flox/flox}}$, $LysMCre^{+/wt}$ マウスとその *littermate control* に対して 8 週齢時点で心エコー検査を行うと、駆出率には有意差が見られなかったものの、コンディショナルノックアウトマウスでは拡張終期・収縮終期の心室内腔が有意に拡大していた。また、これらのマウスの心臓から抽出した RNA を定量的リアルタイム RT-PCR で評価すると、*Nppa* (*Anf*), *Nppb* (*Bnf*), *Atp2a2* (*Serca2*) などの心不全時に発現が亢進する遺伝子、*Gata4*, *Nkx2-5* などの胎児期に発現し心不全時に再活性化する転写因子などの発現がコンディショナルノックアウトマウスで亢進していた。そのため、このコンディショナルノックアウトマウスは前心不全的な表現型を呈しているものと考えられた。

以上、本論文はマウスマクロファージ細胞 RAW264.7 の周期的伸展刺激実験を通してその機械的刺激受容体の一つとして分子 X を同定し、コンディショナルノックアウトマウスを用いて同受容体がマクロファージにおける本遺伝子の発現が心臓の恒常性維持に寄与していることを示した。本研究はこれまで詳細が不明であった心臓組織マクロファージによる心保護作用のメカニズム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。