

審査の結果の要旨

氏名 山口 敏弘

本研究は心不全の病態生理においてドパミン受容体の果たす役割を明らかにするために、圧負荷心不全モデルマウスの心臓から抽出した mRNA の網羅的解析結果を基に、ドパミン受容体の最も主要なサブタイプであるドパミン受容体 D1 (マウス遺伝子名 *Drd1*) に注目した研究である。本研究では、心臓におけるドパミン受容体 D1 の発現細胞種を明らかにした上で、細胞種特異的 *Drd1* ノックアウトマウスを作成し、その機能解析を試みており、下記の結果を得ている。

1. マウスの心臓より抽出した mRNA の網羅的解析を行ったところ、*Drd1* の発現量は正常なマウスの心臓では少ないものの、圧負荷心不全に陥ったマウスでは 40 倍以上に発現量が増加していた。この変化は他のカテコラミン受容体と比較しても最も大きな変化であり、心不全のマーカーとして頻用される心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) の遺伝子 *Nppa* の増加率 (49 倍) とも近似していた。
2. D1R が心臓のどの細胞種に存在しているかを明らかにするために、ラットの培養心筋細胞と心臓線維芽細胞の mRNA の比較検討を行ったところ、*Drd1* は心筋細胞により多く発現していた。また、D1R agonist の投与実験により機能性を持った D1R が心筋細胞に発現していることが確認された。
3. 次に細胞質膜画分を抽出して行ったイムノブロットィング法による評価を行ったところ、圧負荷心不全モデルマウスにおいて蛋白レベルでも心臓 D1R の増加が再現された。さらに圧負荷心不全モデルマウスの単離心筋細胞の mRNA の評価、ドキシサイクリン制御性 D1R 発現マウスの TRE 応答配列による *Drd1* と *LacZ* の双方向性発現システムを利用した β ガラクトシダーゼ染色の評価により、圧負荷心不全時に増加している D1R も心筋細胞に由来したものであることが明らかとなった。
4. 圧負荷心不全モデルの心筋細胞において増加している D1R の役割を検証するために、心筋細胞特異的 *Drd1* ノックアウトマウスを作成し、その解析を行ったところ、心筋細胞特異的 *Drd1* ノックアウトマウスでは圧負荷心不全時の心室性不整脈が有意に抑制されていた。

以上の結果より、圧負荷心不全マウスではもともと発現量の少なかった D1R が心筋細胞において経時的に増加しており、心筋細胞に発現する D1R は心不全時の心室性不整脈の発症に寄与していることが明らかとなった。本研究はこれまで明らかにされていなかった不全心における D1R の機能解析に成功しており、今後の新規心不全治療法の開発に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。