

1 先天性心疾患

▶ 英文表記: congenital heart disease

1) 先天性心疾患とは

ここで先天性心疾患として取り上げるのは遺伝的、エピジェネティックな要因で成人になってからはじめて発症する心筋症のようなものではなく、出生時にすでにみられる中隔欠損症などの形態的、機能的異常である。先天性心疾患は心臓の形態形成が正常に行われなかった結果といえ、その発症にかかわる因子は心臓特異的転写因子を中心に多数報告されている。近年、クロマチンリモデリング複合体をはじめさまざまなエピジェネティック因子が心臓発生、先天性心疾患に大きくかかわっていることが明らかになりつつあるので、ここにその一端を紹介する。

2) *Brg1* と先天性心疾患

われわれの研究において *Nkx2-5::Cre* を用いた *Brg1* の心筋特異的ノックアウトマウスでは心筋層の菲薄化、心室中隔欠損がみられ、そのほとんどが胎仔期 (E10.5) で致死となることがわかった。一方で *Brg1*^{+/-}マウスでは部分的に胎仔性致死となっていると考えられるもの、一定数の個体が出生した。そのうち半数程度の個体が3週齢以内に死亡し、拡張型心筋、心室中隔欠損、心房中隔欠損といった表現型が観察された。これらの実験より、正常な心臓発生において *Brg1* の発現量が決定的な役割を果たしていることが明らかになった。さらに、心臓転写因子 *Tbx5* と *Brg1* のダブルヘテロマウスではほぼ100%の個体で左室低形成と心室中隔欠損がみられ、クロマチンリモデリング複合体と先天性心疾患責任転写因子との間の複雑なクロストークが示唆されている (通常 *Tbx5* ヘテロマウスでは39%の割合で左室低形成を呈する)。つまり、クロマチン因子はヒト心疾患重篤化のリスクファクターとなっていることが示唆される。また、*Brg1* をノックダウンしたゼブラフィッシュでは心腔の狭窄がみられ、*Brg1* の心臓発生における働きが広く保存されていることが示唆されている¹⁾。

3) ヒストンメチル化酵素と先天性心疾患

Kabuki 症候群は常染色体上優性遺伝の遺伝疾患で心室中隔欠損、心房中隔欠損、大動脈狭窄症が患者の約半数にみられる。患者サンプルを用いたエキソームシーケンシング解析によって Kabuki 症候群患者の多くが、Trithorax グループに属する H3K4 のメチル化酵素であ

る *MLL2* に変異を有しているということが明らかになった。この変異により *MLL2* のターゲット遺伝子の発現が、正常に活性化されなくなっていることが病因と考えられる²⁾。

H3K36 のメチル化酵素である *Whsc1* は酵母 Set2 ホモログの1つである。*Nkx2-5* と *Whsc1* は各々のシングルヘテロマウスでは異常を示さないのに対し、ダブルヘテロマウスでは心房心室中隔欠損が多くの個体でみられることから、これらが協調することで発生期において不適切な遺伝子発現を抑制しているものと考えられている³⁾。

4) ヒストン脱メチル化酵素と先天性心疾患

ヒストン脱メチル化活性をもつ Jmjc ドメインを有する *Jmjd6* の欠損マウスは両大血管右室起始症、心室中隔欠損が観察される⁴⁾。一方、同じ Jumonji グループに属する *Jarid2* は、Jmjc ドメイン中の変異によりヒストン脱メチル化活性をもたないと考えられるが、欠損マウスでは両大血管右室起始症や心筋の肉柱過多を生じることが知られている⁵⁾。これらの因子はその脱メチル化活性または、他のエピジェネティック因子とのタンパク質間での相互作用を介してその流出路や中隔の形成に寄与していると考えられる。

X 染色体上に存在する H3K27 の脱メチル化酵素である *Utx* 欠損マウスではルーピング異常、心筋の菲薄化がみられ、胎仔性致死となる。Y 染色体上のホモログである *Uty* はこの表現型を部分的に回復することができることが報告されている⁶⁾。

5) microRNA と先天性心疾患

心臓特異的な *Dicer* の欠損マウスは胎生 12.5 日までに致死となり、miRNA 経路が心臓発生において必要であることがわかる。特に筋特異的な miRNA である miRNA-1-2 の欠失マウスでは心室中隔欠損、刺激伝導系の異常など、種々の心臓発生異常が生じる⁷⁾。

参考文献

- 1) Takeuchi, J. K. et al. : Nat. Commun., 2 : 187, 2011
- 2) Ng, S. B. et al. : Nat. Genet., 42 : 790-793, 2010
- 3) Nimura, K. et al. : Nature, 460 : 287-291, 2009
- 4) Schneider, J. E. et al. : BMC Dev. Biol., 4 : 16, 2004
- 5) Lee, Y. et al. : Circ. Res., 86 : 932-938, 2000
- 6) Lee, S. et al. : Dev. Cell, 22 : 25-37, 2012
- 7) Zhao, Y. et al. : Cell, 129 : 303-317, 2007

Keyword

2 心筋症

▶ 英文表記: cardiomyopathy

1) 心筋症とは

心筋症は「心機能障害を伴う心筋疾患」の総称であり、高血圧、感染、炎症などの明らかな外因によるものを除外して定義される。心筋症の分類としては主に左心室心筋の肥大がみられる肥大型心筋症 (hypertrophic cardiomyopathy) と心筋の細胞脱落、繊維化と心腔の拡大が典型的な症状である拡張型心筋症 (dilated cardiomyopathy) があり、より頻度の低いものとして拘束型、不整脈源性右室心筋症、分類不能型がある。心筋症の定義上、その病態・病因はさまざまではあるが、特に肥大型は遺伝的要因が原因の多くを占めるということが判明している。一方で拡張型も多くが炎症や感染が原因

なのではないかと疑われているが、20～35%程度が遺伝的要因に帰されるということが近年わかってきた。これまでに家族性心筋症などの研究によって同定されてきた心筋症の遺伝的原因の多くは、心筋βミオシン重鎖遺伝子 (MYH7) や心筋トロポニンT遺伝子 (TNNT2) などサルコメア因子の変異が主であったが、近年エピジェネティック因子が発症に関与することを示唆する研究が多く得られている。

ここでは、先天的と後天的に発症する心筋症にかかわるエピジェネティック因子を1つにまとめて紹介する。

2) ミオシンタイプの切り換えと肥大型心筋症

図1で示すように、*Brg1* は心臓発生において非常に重要な働きをもつことが知られるが、成人における肥大型心筋症の発症にも大きく関与するということがわかってきた。胎児期の心筋ではサルコメア構造の構成因子であ

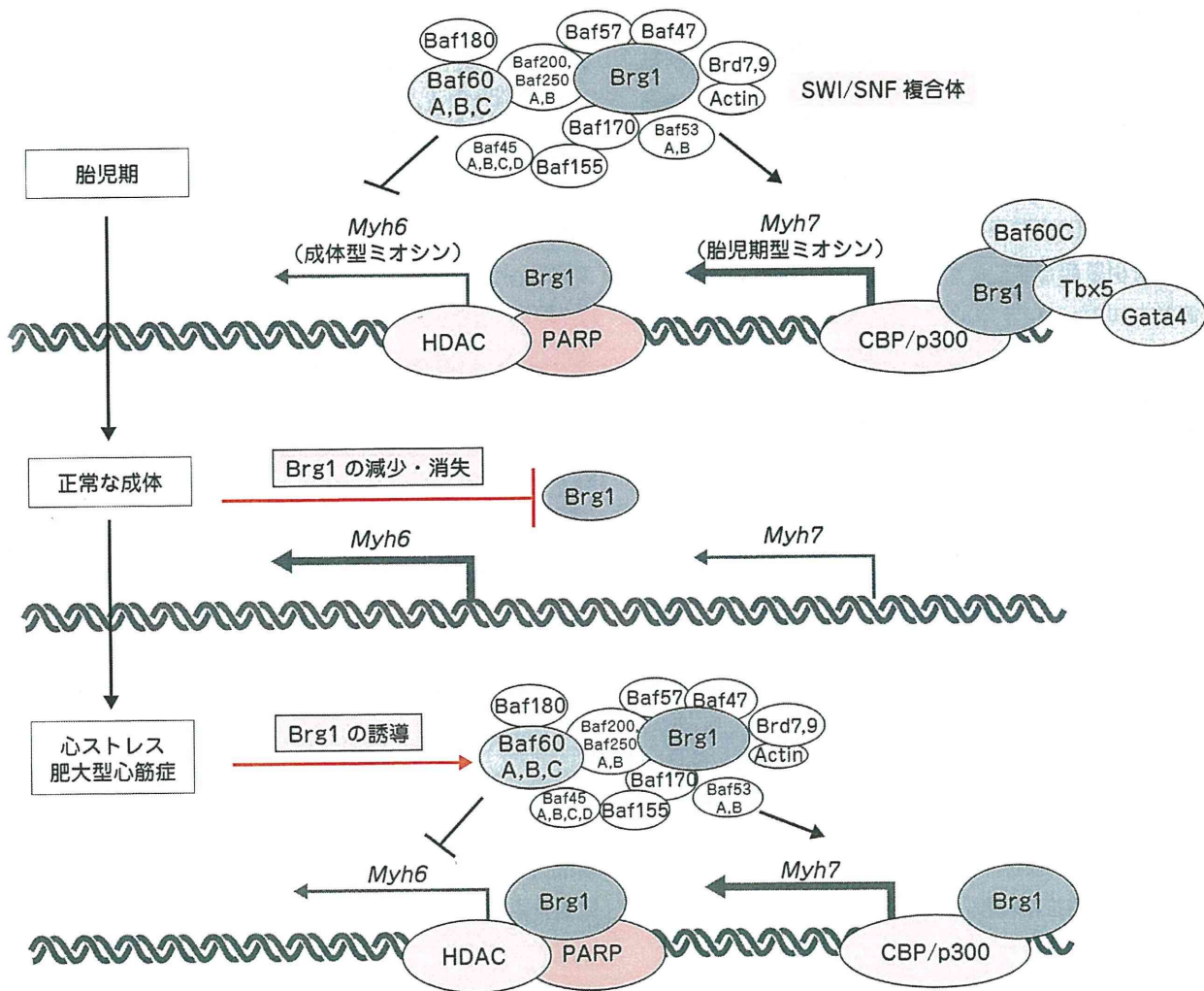


図1 Brg1 が制御する心筋におけるミオシンタイプの切り換え

るミオシン重鎖型が β -myosin heavy chain (β MHC, Myh7) だが, 成体心筋では α MHC (Myh6) に切り替わる。Brg1はこのミオシン重鎖 (myosin heavy chain : MHC) の切り替えに大きく寄与していることが報告されており, Brg1存在下では胎児期型の β MHC (Myh7) が維持されるのに対し, Brg1非存在下では成体型の α MHC (Myh6) へと切り替えが起こる。原因不明な肥大型心筋症の患者から得られた心臓組織と正常な心臓組織とを比較すると, BRG1の発現レベルと心筋症の重症度, さらにMHCの切り替えの程度に相関がみられるということがわかった¹⁾。

これは成体における心筋症と胎児期心臓のエピジェネティクスとが強い関連性をもっているという一般的な原理を示唆している。また, α MHCのイントロンにコードされるmiR-208は骨格筋因子の発現を抑制する一方で β MHCの発現を誘導し, これらのスイッチングに関与するということが知られている²⁾。

3) Dot11と拡張型心筋症

Dot11はH3K79のメチル基転移酵素であり, マウスにおいて心臓特異的に欠損させることで拡張型心筋症様の表現型がみられ, 著しくその生存率が低下することが知られている。この表現型はDot11の欠損が, 筋ジストロフィー症の原因遺伝子であるDmd (Dystrophin) の発現低下を引き起こすことによるということが報告されている³⁾。

4) PRCと心筋症

Rae28はPRC1 (polycomb repressive complexes 1) のサブユニットをコードする遺伝子で, 心臓では心筋発生に重要な転写因子であるNkx2-5の発現の維持に関与していることが知られている。Rae28のノックアウトマウスは流出路の中隔形成異常を起こすのに対し, Rae28を心臓特異的に過剰発現させたマウスは新生仔期には異常な表現型を示さない。しかしながら成長につれて拡張型心筋症を発症し, 9カ月以内に100%の個体が死に至る⁴⁾。

PRC2のサブユニットであるEzh2を心臓前駆細胞特異的に欠損させたマウスではその下流遺伝子である転写因子Six1の発現抑制が解除されることで, その下流に位置する骨格筋遺伝子群が活性化され, 成体において心肥大が引き起こされる⁵⁾。

5) ヒストン脱アセチル化酵素と心筋症

Hdac1, Hdac2は機能的に重複しており, 一方の心臓

特異的欠損マウスでは表現型がみられないが, 両者を心筋特異的に欠損させることで, 不整脈, 拡張型心筋症を発症し, 生後2週間以内に死亡する⁶⁾。また, Hdac2のジーントラップ変異体を用いた解析では肥大型心筋症を発症することが報告されている。Hdac2はホメオドメイン型抑制因子であるHopxと共役複合体を形成し, 心筋増殖活性を抑制していることが明らかにされた⁷⁾。一方でHdac3の心臓特異的欠損マウスでは重篤な心肥大と繊維化がみられ, 生後3~4カ月でほとんどの個体が死亡することが知られている。興味深いことに, この心筋特異的なHdac3欠損マウスではPPAR α のプロモーターが活性化された結果, メタボリック遺伝子の発現変化が引き起されていた⁸⁾。さらに, Hdac5とHdac9は機能的に重複しており, 筋分化・増殖にかかわっていることが報告されている⁹⁾。

参考文献

- 1) Hang, C. T. et al. : Nature, 466 : 62-67, 2010
- 2) van Rooij, E. et al. : Science, 316 : 575-579, 2007
- 3) Nguyen, A. T. et al. : Genes Dev., 25 : 263-274, 2011
- 4) Koga, H. et al. : Lab. Invest., 82 : 375-385, 2002
- 5) Delgado-Olguin, P. et al. : Nat. Genet., 44 : 343-347, 2012
- 6) Montgomery, R. L. et al. : Genes Dev., 21 : 1790-1802, 2007
- 7) Trivedi, C. M. et al. : Nat. Med., 13 : 324-331, 2007
- 8) Montgomery, R. L. et al. : J. Clin. Invest., 118 : 3588-3597, 2008
- 9) Chang, S. et al. : Mol. Cell. Biol., 24 : 8467-8476, 2004

Keyword

3 高血圧症

▶ 英文表記 : hypertension

1) 高血圧症とは

高血圧症とはその名の通り, 血圧が病的に高い状態を示す用語である。その発症にはナトリウムの排出, 再吸収を行う腎臓が大きくかかわっていることが知られている。血管も血圧を調節するうえで重要な器官で, 血管平滑筋の収縮や血管内皮機能障害, 血管リモデリングなどにより末梢血管抵抗が増大することで血圧が上昇することが知られている。高血圧は血管に強いつり応力を加えることで粥腫 (atheroma) の形成を引き起こし, 動脈硬化を誘引する。動脈硬化は虚血性心疾患, 心肥

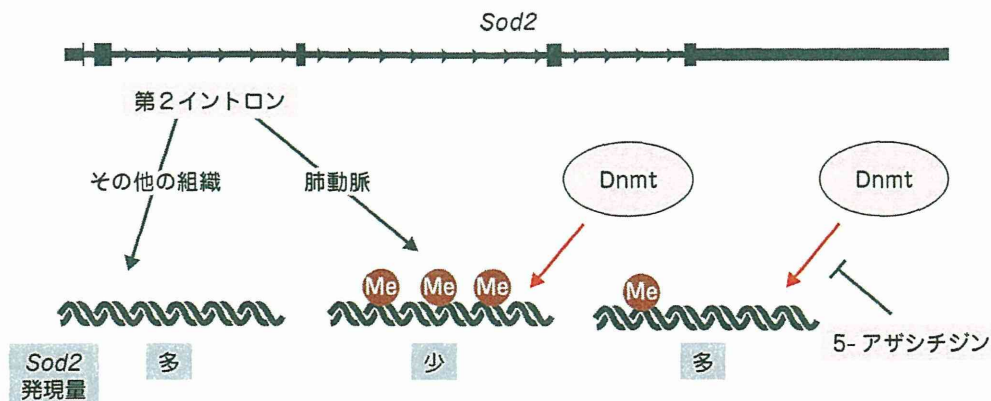


図2 肺動脈性高血圧症の責任遺伝子 *Sod2* 座位における DNA メチル化制御と治療法

大、脳卒中など重大な合併症の原因となるため、高血圧発症機序の解明は急務だといえよう。

2) 胎仔期環境と高血圧症

妊娠ラットに低タンパク質食を与えると、その仔供で高血圧が観察されることが知られている。この発症にはさまざまな遺伝子発現の変化が伴っていることが知られ、特に高血圧の発症に関与するとされる糖質コルチコイド受容体 (*Nr3c1*) が肝臓において発現上昇する。さらに、これらの遺伝子のプロモーター領域は有意に低メチル化状態になっており、ヒストン修飾も転写を活性化する状態となっていることがわかった。CpGメチル化の維持に機能する *Dnmt1* の発現レベルの低下もみられたことから、このことがグローバルなメチル化状態の低下を引き起こし、病的な状態を引き起こした可能性が考えられる¹⁾。また、血圧調節に決定的な作用をもつRAS (renin-angiotensin system) を構成する因子であるアンジオテンシンII受容体 *AT_{1b}* (*Agtr1*) の発現も副腎において同様に上昇、そのプロモーターの低メチル化がみられることが報告されている²⁾。

3) *Lsd1* と高血圧症

Lsd1 (*Kdm1a*) はH3K4やH3K9の脱メチル化に働くことが知られている因子であるが、食塩感受性高血圧とかかわりがあるということがわかってきた。低塩食を与えられた *Lsd1*^{+/-}マウスはWT (野生型マウス) と変わらない収縮期血圧を有するが、塩分の多い食事を与えると *Lsd1*^{+/-}マウスはWTと比較し有意に収縮期血圧が上昇することがわかった。また、アドレナリン作動性神経の働きを再現するフェニレフリンを大動脈環に与えた

際の収縮力が強くなる一方で、大動脈環の弛緩を起こすアセチルコリンへの反応性が低下していた。平滑筋の弛緩に寄与するNO-cGMP経路の主要な因子であるeNOS (*Nos3*) とグアニル酸シクラーゼの発現量を心臓と大動脈で検討したところ、*Lsd1*^{+/-}マウスで有意にこれらの発現量が低下しており、これが高血圧の原因となると考えられた³⁾。 *LSDI* に SNP を有するヒトでも同様の反応が起こることがわかっており、その臨床における重要性が示唆されている⁴⁾。

4) 肺動脈性高血圧症とエピジェネティクス

肺動脈性高血圧症 (pulmonary artery hypertension: PAH) は肺動脈の高血圧がみられる疾患で、全身の酸素欠乏状態が顕著な症状である。PAHの原因遺伝子の1つとしてがん抑制遺伝子である *Sod2* があげられる。*Sod2* は *Hif1a* などの発現を調節していることが知られており、PAH患者の肺動脈では *SOD2* の発現レベルが著しく低いことが報告されている。図2に示すように、PAH様の症状を呈する Fawn hooded ラットの *Sod2* 座位における DNA メチル化状態をさまざまな組織で調べると、肺動脈において転写開始点の5'側は他の組織と同じくメチル化されていなかったが、第2番のイントロンが特異的にメチル化されていることがわかった。驚くべきことにこのイントロン部位は多くのがん細胞でもメチル化されている箇所であることがわかった。さらに、DNAメチル基転移酵素の機能を阻害する5-アザシチジンを投与することで、*Sod2* の発現状態が通常に戻り、異常な細胞増殖が抑えられるということが見出された⁵⁾。

参考文献

- 1) Lillycrop, K. A. et al. : Br. J. Nutr., 97 : 1064-1073, 2007
- 2) Bogdarina, I. et al. : Circ. Res., 100 : 520-526, 2007
- 3) Pojoga, L. H. et al. : Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 301 : H1862-H1871, 2011
- 4) Williams, J. S. et al. : Am. J. Hypertens., 25 : 812-817, 2012
- 5) Archer, S. L. et al. : Circulation, 121 : 2661-2671, 2010

Keyword

4 心不全

▶ 英文表記 : heart failure

1) 心不全とは

心疾患の死亡率のうち最も多くの割合を占めるのが心不全である。心不全とは心筋梗塞・心筋症・不整脈・弁膜症などの心臓疾患の慢性化により心臓のポンプの状態が低下し、末梢主要臓器の酸素需要量に見合うだけの血流量を拍出できない状態のことである。

2) miRNA と心不全

近年のゲノム科学の進展により新しくみつかったRNA群は、タンパク質のアミノ酸配列情報をコードせず、それ自身が独自の機能をもつのではないかと考えられている。これらはncRNA（ノンコーディングRNA）とよばれており、ヒトでは、ゲノムの70～90%から転写される¹⁾。そのなかでも特に、miRNA（microRNA）とよばれる18～23ヌクレオチドのRNAは、主に、翻訳阻害により複数のmiRNAを制御していることが明らかにされている。ここ10年でヒト疾患、特に、悪性新生物において発現が上昇または減少するmiRNAが数多く報告され、ヒト疾患におけるmiRNAの機能が注目されつつある。

心臓においてもmiRNAと心疾患との関連性が多数報告されている。マウスの心臓においてmiRNA全体の生成過程に障害が起こると、心不全や拡張型心筋症を発症し最終的に死に至る²⁾。そのためmiRNAは心臓に必須であり、ヒトにおいてもその発現変化が心疾患発症に影

響をおよぼすと考えられる。以下、心不全に関与するmiRNAについていくつか解説したい。

3) 心不全に関与するmiRNAの分子種

miR-29は心筋梗塞後に減少し、心臓の繊維化を亢進させることが報告されている³⁾。miR-29は*Coll1a1*や*Fbn1*などの繊維化関連因子の阻害を介して心筋の繊維化を抑制する。また、miR-21は、心臓損傷部の線維芽細胞において、*Spry1*（sporoutry homologue 1）の阻害を介したMAPKシグナル経路の活性を制御することが報告された⁴⁾。通常、心臓損傷時、miR-21は増加するが、miR-21の人為的な発現抑制により、ERK-MAPKシグナル活性の低下が引き起こされ、間質性繊維化の阻害・心機能不全の回復につながる事が明らかにされた。さらに、心臓の老化と機能を調節するmiRNAとして、miR-34aが同定されている⁵⁾。miR-34aは老化心臓で誘導されるが、miR-34aの発現抑制により急性心筋梗塞後に起こる心臓の繊維化を減少させ、心機能回復に寄与する。さらに、miR-34aは、心筋細胞においてテロメアの短縮化・アポトーシス・DNA損傷応答の阻害に働く*Pnuts*（*Ppp1r10*）を標的とし、その発現を抑制することが明らかにされ、急性心筋梗塞予後における治療応用への発展が期待される。

このように、心不全の原因となる疾患が複数のmiRNAの増加もしくは減少により引き起こされることが明らかにされてきた。近い将来、miRNA、またはその下流因子を標的とした治療薬の開発やバイオマーカーへの応用といった、新たな治療法の開発へと発展しうるのであろう。

参考文献

- 1) Lee, J. T. : Science, 338 : 1435-1439, 2012
- 2) Chen, J. F. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 105 : 2111-2116, 2008
- 3) van Rooij, E. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 105 : 13027-13032, 2008
- 4) Thum, T. et al. : Nature, 456 : 980-984, 2008
- 5) Boon, R. A. et al. : Nature, 495 : 107-110, 2013

