

課題番号：70

マルチスケール遺伝子解析手法による 高剪断流れ合併症の病態解明

[1] 組織

代表者： 坂本 晃海
(公益財団法人実験動物中央研究所)
対応者： 山家 智之
(東北大学加齢医学研究所)

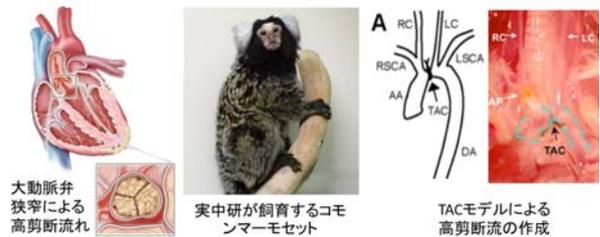
研究費： 物件費 6万2千円， 旅費 3万8千円

[2] 研究経過

人工心臓の適用数は年々増加し、10年生存率も高い。一方で長期使用による合併症（脳出血・消化管出血・心臓弁の石灰化）が生じ、その機序が未解明であり有効な対処法が無いことが問題となっている。高剪断流れが一因であるという仮説が提唱されている（人工臓器学会,2017）が、その機序を包括的に説明可能なエビデンスは得られていない。そこで、我々は正常血管に対して高剪断流れを負荷し、遺伝子解析を行い、人工心臓の長期使用における合併症の機序を解明することを目的とし、本成果を活用して治療法や治療薬を創出することを最終的なゴールとする。これまでに山家らは実験動物としてヤギを用い、ヒトと同じスケールを有し、血液量も同じ事から人工心臓の試験には最も適しており、十分な成果を上げてきたが、マウスなどの系統立った実験動物では無いことと、ヒトと大きく離れた分化を遂げていることから、遺伝子解析による機序解明を行うことは困難であった。坂本の所属する実験動物中央研究所は、霊長類であるコモンマーモセットを約800頭飼育しており、遺伝子解析技術も確立している。そこで臨床用の人工心臓を用いた剪断負荷の評価をヤギで、剪断流れによる血管組織の遺伝子解析をマーモセットで行う。山家が有する大動物の実験系と坂本が有する外乱のない遺伝子レベルの解析手法を組み合わせることでこれまで未解明だった病態機序の解明を試みるものであり、本共同研究は、ヒトと近い遺伝子解析を実験動物中央研究所で実施し、ヒトと同スケールの解析を東北大学で実施するマルチスケリングな実験系であり、「遺伝子→組織→生体」と解析系を展開し、遺伝子（ミクロ）の働きを指標としつつ、病態（マクロ）の解明を目指すものである。そ

の足がかりとして坂本はマーモセットのTAC(Transverse aortic constriction)モデルの作出を行い、剪断流れの評価法の検討と血管周囲組織の採材を行う。山家はヤギに人工心臓を装着し、剪断がかかる部位の血管と末梢の血管サンプルを採材する。

これまでに4度研究打ち合わせの場を設け、そのうち東北大学で1回研究打ち合わせを実施した。

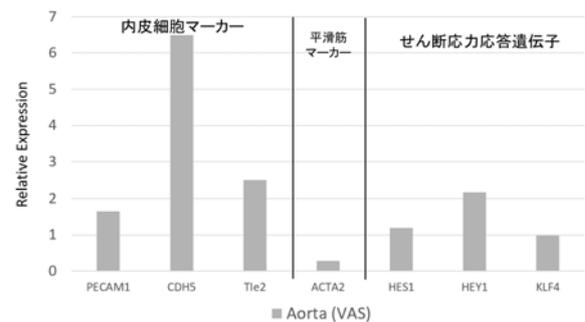


[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

実験を円滑に進めるために、東北大学と実験動物中央研究所との間で、MTA (Material Transfer Agreement) 契約を結んだ。



ヤギに人工心臓を装着し、10時間循環させた後の大動脈に遺伝子解析を実施し、上記のような結果を得た。せん断附加を掛けていないヤギの大動脈の遺伝子発現を1として正規化したときの、せん断附加をかけた大動脈の発現量を示したものである。血管内皮マーカー、平滑筋マーカー、せん断応力応答遺伝子の3群に対して比較を行ったところ、内皮細胞マーカーのCDH5に大きく影響が見られた。またせん断応力応答遺伝子として知られるHEY1も2倍を超える値を示した。平滑筋マーカーが小さい値を示

したことから、血管から抽出した遺伝子の量が両群で異なっていた可能性が示唆された。そのような状況にもかかわらず、正規化した値を超えた CDH5 や HEY1 は注目すべき遺伝子と考えられた。

ヤギの遺伝子型のいくつかは明らかになっているものの、体系立った環境にはなく、ヤギ自体が実験動物として遺伝的に系統立っていないため、個体間の比較は高いハードルがあることがわかった。今後はせん断応力がかかる部位（大動脈弓部）と、かかりにくい部位（頸動脈など）とで比較を行うことが望ましいと考えられる。

（3-2）波及効果と発展性など

遺伝子発現解析を行うことで、血流環境の変化が心臓血管系に与える影響を遺伝子レベルで明らかにすることが可能である。同定された発現変動遺伝子は、合併症等の発症に深く関与していると考えられるため、その遺伝子機能を人為的に操作（活性化・抑制）することは、合併症を予防する重要な創薬ターゲットとなりえる。また、遺伝子発現レベルで評価することで、合併症の生じない人工心臓を開発できる可能性も期待される（医療機器の開発）。

本研究提案は、生体の循環器系に精通した研究者と遺伝子レベルの解析に精通した研究者が連携することで、ミクロからマクロのスケールにおいて研究を展開するという特徴がある。このような研究はこれまで例がなく、この研究が成功した暁には、人工心臓によって引き起こされる合併症の機序を解明し、薬品の開発やさらに長期間使用可能な人工心臓の開発につながることを期待される。

〔4〕 成果資料

1. Development of Evaluation System for Von Willebrand Factor Degradation by Shear Stress of Mechanical Circulation, Yusuke Inoue, Masaki Hayakawa, Masanori Matsumoto, Hisanori Horiuchi, Yasuyuki Shiraiishi, Akihiro Yamada, Masato Karube, Tatsuya Genda, Tomoyuki Yambe, IEEE EMBC 40, 2018
2. 高ひずみ剪断流体のVWF損傷評価用往復動流体試験システムの開発、舘崎祐馬、白石泰之、井上雄介、山田昭博、軽部雅人、源田達也、岩元直樹、盛田良介、堀内久徳、松本雅則、早川正樹、山家智之、第56回日本人工臓器学会
3. 高せん断応力とフォンウィルブランド因子に関する基礎研究、井上雄介、早川正樹、松本雅則、堀内久徳、山田昭博、白石泰之、軽部雅人、源田達也、岩元直樹、舘崎祐馬、盛田良介、山

家智之、第56回日本人工臓器学会

4. 高ひずみ剪断流体によるVWF損傷評価用往復運動流体試験系の開発、舘崎祐馬、白石泰之、井上雄介、山田昭博、軽部雅人、源田達也、岩元直樹、盛田良介、堀内久徳、松本雅則、早川正樹、山家智之、第5回加齢研リトリート
5. 人工心臓開発のためのVWFに及ぼす流体剪断負荷定量化の基礎検討、舘崎祐馬、白石泰之、井上雄介、山田昭博、軽部雅人、源田達也、岩元直樹、盛田良介、早川正樹、松本雅則、堀内久徳、山家智之、第47回人工心臓と補助循環懇話会学術集会
6. 高せん断によって引き起こされる後天性フォンウィレブランド症候群に関する基礎研究、井上雄介、早川正樹、松本雅則、堀内久徳、山田昭博、白石泰之、軽部雅人、源田達也、岩元直樹、舘崎祐馬、盛田良介、山家智之、第47回人工心臓と補助循環懇話会学術集会
7. マルチスケールメカノバイオロジー解析手法による人工心臓合併症の病態解明、井上雄介、山田昭博、久保純、吉野大輔、第1回加齢研若手共同研究促進助成金成果報告会
8. 人工心臓の長期使用における後天性フォンウィルブランド症候群に関する研究、井上雄介、早川正樹、松本雅則、堀内久徳、山田昭博、白石泰之、軽部雅人、源田達也、岩元直樹、舘崎祐馬、盛田良介、山家智之、第5回医工学懇親議会 冬季議会