

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： 塚本 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 15 万円

[2] 研究経過

本研究は人工心臓の合併症の機序を解明するために行う。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）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。塚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塚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ールな実験系であり、「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

足がかりとして塚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 7 度研究打ち合わせの場を設け、そのうち東北大学で 2 回研究打ち合わせと、実験を実施した。本年度はコロナウイルスの影響によりビデオ会議において研究打ち合わせを行った。



[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。

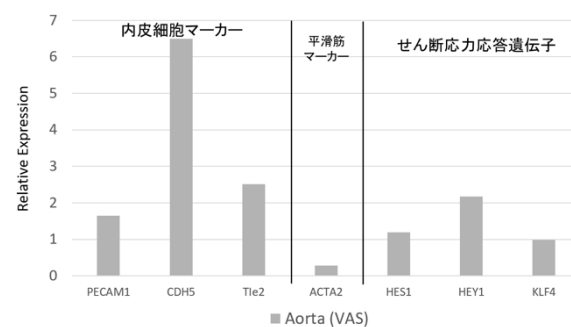


図1 せん断を付加した血管の遺伝子発現結果

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。



図2 左：マウスの心臓と血管系
右：下行大動脈に作成した TAC モデル

（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。

今後、加齢医学研究所神経機能情報研究分野の久保と実中研の間で MTA を締結し、サンプルの共有を行う計画である。

〔4〕 成果資料

1. 微細管路系による流体剪断負荷と von Willebrand factor 損傷に関する特性評価の基礎検討, 舘崎祐馬、白石泰之、井上雄介、山田昭博、岩元直樹、盛田良介、Ahmad Faiz Ibadurrahman、橋本真登香、早川正樹、萱島道徳、松本雅則、堀内久徳、山家智之, 第 57 回日本人工臓器学会大会, 大阪国際会議場、リーガロイヤルホテル大阪、梅田スカイビル, 大阪府・日本, 2019/11/13-15
2. 機械的流体剪断負荷と VWF 損傷に関する実験的検討, 舘崎祐馬、白石泰之、井上雄介、山田昭博、岩元直樹、盛田良介、Ahmad Faiz Ibadurrahman、橋本真登香、早川正樹、萱島道徳、松本雅則、堀内久徳、山家智之, 第 6 回加齢医学研究所リトリート, La 楽リゾートホテル グリーングリーン, 宮城県・日本, 2019/10/31-11/1
3. 後天性フォンヴィレブランド症候群について, 早川正樹、堀内久徳、小亀浩市、山家智之、白石泰之、山田昭博、井上雄介、齋木佳克、安居輝人、南谷武春、松本雅則, 第 81 回日本血液学会学術集会, 東京国際フォーラム, 東京都・日本, 2019/10/11-13
4. Development of Evaluation System for Von Willebrand Factor Degradation by Mechanical Stress of Blood Pump, Yusuke Inoue, Masaki Hayakawa, Akihiro Yamada, Masanori Matsumoto, Hisanori Horiuchi, Yasuyuki Shiraishi, Yuma Tachizaki, Genta Sahara, Aoi Nakahata, Naoki Iwamoto, Ryosuke Morita, Tomoyuki Yambe, 41th International Engineering in Medicine and Biology Conference, CityCube Berlin, Berlin, Germany, 2019/07/23-27
5. 微細管路を用いた血流特性が及ぼす von Willebrand factor (VWF) への血行力学的影響の基礎検討, 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 58 回日本生体医工学会大会, 沖縄コンベンションセンター, 沖縄県・日本, 2019/6/6-8