

分子遺伝学的アプローチによる動脈硬化症修飾遺伝子の同定とその解析

石森 直樹 [北海道大学病院循環器科／医員]

背景・目的

近年、急速な高齢化と食生活の欧米化に伴い、動脈硬化関連疾患が急増している。動脈硬化病変は、高脂血症・高血圧症・糖尿病などの危険因子をもとにして、長期間かけて形成される多因子疾患である。現在、既知の動脈硬化危険因子をコントロールすることで、発症予防・進展抑制に対して一定の成果を挙げているが、充分とは言い難く新たな介入ターゲットの同定が求められている。本研究は、2003年に国際共同チームにより完了された(ヒト・マウス)ゲノム塩基配列解読情報を活用して、分子遺伝学的アプローチにより新たな動脈硬化症修飾遺伝子(Modifier genes)を同定し、その遺伝子機能を解析することを目的とする。

内容・方法

動脈硬化症をはじめとする多因子疾患 (Common disease)で新たな修飾遺伝子を同定するには、疾患モデル動物を用いたQTL (Quantitative Trait Loci) 解析が有用である。これまで我々は、動脈硬化発症モデルとして高脂食投与マウスを用いてQTL解析を行ない、修飾遺伝子を含む領域 (QTL) をゲノム上に複数マッピングした。さらにハプロタイプ解析では、これらのQTLのうちAth17 (Chromosome 10, 30-36 cM) に含まれる新たな転写因子をコードするGene Xが、修飾遺伝子として重要であることが示唆された。

今回我々は高脂食投与下でのGene Xの遺伝子発現の変化を検討する目的で、2ヶ月齢雌性C57BL/6マウスを用意し、その一部を普通食から高脂食に変更して2週間飼育した。普通食および高脂食投与マウスより大動脈・肝臓・脂肪組織を回収し、定法に従いRealtime PCR法で高脂食がGene Xの発現に及ぼす影響を検討した。各マウスの体重や内臓重量なども同時に検討した。

結果・成果

高脂食を2週間投与したC57BL/6マウス群(高脂食群)と、普通食を継続投与したマウス群(普通食群)との間で体重増加に差は認めなかった。両群間でサンプリング時の内臓脂肪重量に差を認めなかったが、病理組織学的に検討した1脂肪細胞当たりの断面積は高脂食群で有意に大きく、高脂食の投与を開始して2週後で既に脂肪細胞の肥大化が始まっていることが示唆された。その他、肝臓などの内臓臓器重量や血糖

値に差は認めなかった。

普通食投与マウス群でGene Xの発現を確認したところ、今回解析した臓器の間では脂肪組織>大動脈>肝臓の順で発現が強く認められた。高脂食群の大動脈・肝臓における遺伝子発現は、普通食群と同程度であったが、脂肪組織においては高脂食群で遺伝子発現が普通食群に較べて有意に抑制されていた。高脂食を開始して2週間、脂肪細胞の肥大化が始まっているが脂肪組織重量は変わらないという早期の段階で、Gene Xの発現の変化が脂肪組織において認められた。このことは、Gene Xが脂肪組織の分化増殖に深く関与していることを示唆する。

近年、急速な生活習慣の変貌により我が国においても肥満が大きな社会問題となっている。動脈硬化進展の基盤としてメタボリックシンドロームという概念が提唱され脚光を浴びている。肥満は最も重要な要素とされているが、メタボリックシンドロームの本態については不明な点が多い。今回の遺伝子発現に関する実験の結果から、Gene Xがコードする転写因子は摂取エネルギーに応じて、脂肪細胞でエネルギー代謝に関わる種々の遺伝子の発現を調節し、その結果動脈硬化の進展を規定していることが推察される。しかし現在のところ、生体内におけるこの転写因子の機能についてはほとんど解明されておらず不明である。そこで我々は、Gene X発現の欠如したES細胞 (129 background)を米国Bay Genomicsより入手して、Gene X欠損マウスの樹立を進めている。すでに現在まで、ES細胞をC57BL/6由来胚盤胞に顕微注入してキメラマウスを樹立し、雄性キメラマウスを雌性C57BL/6マウスにバッククロスしてN3F1マウスを得ている。交配・継代に問題は見られず、多型マーカーガイドによるスピードコンジェニック法で樹立しているため、N3F1マウスの遺伝背景は全ゲノムの約90%がC57BL/6となっている。本法によるN5F1マウスの遺伝背景はほぼC57BL/6と考えてよく、近日中にはGene X欠損マウスが樹立完了し、種々の心血管疾患モデルマウスを用いてGene Xの詳細な解析を行なう予定である。

今後の展望

今回の実験より、Gene Xがコードする転写因子は脂肪組織における遺伝子発現を調節し、最終的に動脈硬化病巣を規定することが推察された。現在、高脂食投与マウスのほか、ApoE欠損マウス、LDLR欠損マウス、ob/obマウスなど、多くのモデルマウスがヒトの心血管代謝病の病態解明に大きく貢献しており、今後これらのマウスとの組み合わせで、本転写因子の生体における機能が急速に解明されることであろう。また、本転写因子により発現が調節されている下流の遺伝子群を同定することは、動脈硬化治療の新たなターゲットの創出へと大きく期待される。