



Title	Non-invasive and quantitative live imaging reveals a potential stress-responsive enhancer in the failing heart
Author(s)	松岡, 研
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34312
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	松岡 研
論文題名 Title	Non-invasive and quantitative live imaging reveals a potential stress-responsive enhancer in the failing heart (非侵襲的・定量的ライブイメージングにより、不全心におけるストレス応答エンハンサーが同定された)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 近年のゲノム解析技術の進歩により、様々な状況において遺伝子発現の制御する多くのエンハンサー領域が同定されてきた。しかしながら、生きている動物において、体内のエンハンサー活性を経時的・定量的に評価する方法が存在しなかったため、病的状態に反応して遺伝子発現を制御するエンハンサーはほとんど知られていない。そこで、我々は無侵襲的・定量的に生体内の転写活性を評価できるライブイメージングシステムを開発し、臨床において心不全マーカーとして最も有名なナトリウム利尿ペプチド（ANP, BNP）の遺伝子発現を制御するストレス応答エンハンサーを同定することを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 比較ゲノム解析・ChIP-sequence Analysisを利用して、ANP, BNP遺伝子の周辺約50kbから11箇所のエンハンサー候補領域を抽出した。次に、Phenylephrine ($\alpha 1$作動薬) 刺激されたラット心筋細胞では心不全時と同様にANP, BNP遺伝子の発現が増加することを利用して、心不全応答エンハンサーのスクリーニングのために、ラット心筋培養細胞のルシフェラーゼアッセイを行った。その結果、CR9というエンハンサー候補領域のみ、Phenylephrineに反応して転写活性が増加した。CR9はBNP遺伝子から22kb上流にある脊椎動物間で高度に保存されている650bpであった。更にCR9とANP・BNP promoterとの相互作用を調べるため、Chromosome Conformation Capture (3C)を行ったところ、マウス心臓組織において、CR9とANP・BNP promoterがループ形成をしており、心負荷によりそれが増強されることが示された。 次に、実際に生きているマウスにおいて、CR9の転写活性が心不全ストレスに応答して増強しているかを確認するために、CR9+ルシフェラーゼレポーターを遺伝子導入したトランスジェニックマウスを作成し、ルシフェラーゼ発光をライブイメージングで経時的に評価した。大動脈縮窄術（TAC）による圧負荷心不全において、CR9は心不全進行に反応してルシフェラーゼ発現を活性化させることが示された。 〔総 括(Conclusion)〕 無侵襲的・定量的に生体内の転写活性を評価できるライブイメージングシステムを開発することにより、不全心においてナトリウム利尿ペプチドの発現制御をするストレス応答エンハンサーを同定した。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 松岡 研	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 高 島 成二
	副 査 大阪大学教授 戸 田 明二
	副 査 大阪大学教授 金 田 安史

論文審査の結果の要旨

ナトリウム利尿ペプチドは、心不全で著明に発現が増加し、臨床において心不全のマーカー・治療薬として頻用されているが、心不全ストレスに応答して発現が増加する機序は不明であった。本研究では、比較ゲノム解析、ChIP-sequence解析、Chromosome Conformation Capture (3C) 法による多方面からのゲノム解析と、心筋培養細胞における詳細な転写活性評価により、ストレスに応答するエンハンサー領域が同定された。更には、生体で転写活性評価が可能なモデルマウスを開発することにより、同定されたエンハンサー領域が生体においても心不全ストレスに応答することが示された。本研究で作成された遺伝子導入マウスは、心不全重症度を生体イメージングで評価できるため、心不全治療薬や心毒性薬剤のスクリーニングに有用と考えられる。また、このエンハンサー領域に結合する転写因子が同定できれば、新たな心不全治療薬になる可能性がある。本研究は学位の授与に値すると考えられる。