

## 平成14年度自治医科大学大学院 研究奨励賞研究成果報告

### 心血管病に対する機械的ストレスの影響

地域医療学系 循環器・呼吸器疾患学  
3 学年 大木 るり

当院で心臓手術を施行した 9 例の患者右心耳心筋を採取し、Swan-Ganz カテーテル検査による圧データと心エコーによる三尖弁閉鎖不全の逆流流量をもとに、圧負荷群、容量負荷群、コントロール群の 3 群に分類した。DNA チップを用いて群別に遺伝子発現変化を検討した。圧負荷群において cyclin dependent kinase inhibitor1A (CDKI1A), MAP kinase phosphatase1 (MKP1) は、コントロール群、容量負荷群に比較して有意に遺伝子発現の亢進が認められた。細胞周期を阻止する CDKI1A, MAP kinase を不活化する MKP1 は real-time RT-PCR 法でもコントロール群に比較し発現亢進が確かめられた。さらに、シリコン膜上に生後 1 日のラット培養心筋細胞を付着させ strain device を用いて二次元方向性に心筋細胞を伸展することで機械的ストレスを加え、in vitro の系における蛋白発現量の変化を検討した。MKP1, CDKI1A のいずれにおいても機械的伸展刺激の amplitude 増加に伴う蛋白産生の亢進が認められた。本研究の結果より慢性的に圧負荷がかかった心筋では、細胞肥大に向う生体反応に対して自己防衛的に細胞周期の制御もしくは細胞肥大の抑制を行うことで、自ら平衡状態を保つ方向に調節している可能性が示唆された。

一方、高血圧による機械的ストレスが血管壁のマクロファージにどのような影響を及ぼすか解明することを目的として、ヒト単球系細胞株である THP-1 細胞をシリコン膜上に付着させた後、機械的伸展刺激を加え DNA チップを用いた遺伝子発現解析を行った。6 時間の伸展刺激でコントロールに比較し、2.5 倍以上の発現亢進が認められた遺伝子は prostate apoptosis

response 4, interleukin 8 (IL8), IEX1 の 3 種類であった。Real-time RT-PCR 法にてその定量性を評価し、3 種類の遺伝子いずれにおいても、1% の伸展刺激では時間経過に伴い、6 時間の刺激では amplitude dependent に発現亢進が認められた。IL8 は、ELISA 法にて伸展刺激の時間経過とともに培養上清中への蛋白産生の亢進が確かめられた。ヒト単球系細胞株に機械的刺激を加えることにより、immediate early gene や inflammatory gene の発現亢進が認められ、これらが動脈硬化の促進やプラークの不安定化に影響を与えている可能性が示唆された。

### 文 献

Ohki R, Yamamoto K, Mano H et al.: Identification of mechanically induced genes in human monocytic cells by DNA microarrays. *J Hypertens.* 20(4): 685-91, 2002.

### 高密度 DNA チップを用いた心肥大・心不全発症機構の解析

地域医療学系 循環器・呼吸器疾患学 4 学年  
上野 修市

心肥大は虚血性心疾患や不整脈、突然死などの危険因子である。また心不全は主要な死因の一つでありその予後は不良である。しかしこれらの発症メカニズムは未だ不明な点が多いのが現状である。遺伝的食塩感受性高血圧発症ラットである Dahl ラットは、高食塩負荷により高血圧性心肥大から心不全を発症する。本研究では、高密度 DNA チップを用いて Dahl ラット心筋における心肥大・心不全発症機構を解析した。

6 週齢より 8% の高食塩飼料摂取を開始し、正常コントロールには 0.3% の低食塩飼料摂取を続けた。6, 8, 11, 13 および 15 週齢において各群の Dahl ラット (各 n=2) の左室心筋より mRNA を抽出し、cDNA を合成した後 biotin