

肺動脈性肺高血圧症の疾患関連遺伝子 ATOH8 の同定

1. 発表者：

森川 真大（東京大学大学院医学系研究科病因・病理学専攻 分子病理学 助教）
鯉沼 代造（東京大学大学院医学系研究科病因・病理学専攻 分子病理学 准教授）
宮園 浩平（東京大学大学院医学系研究科病因・病理学専攻 分子病理学 教授）
三谷 義英（三重大学医学部附属病院 小児科学 准教授）
丸山 一男（三重大学大学院医学系研究科 麻酔集中治療学 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆肺動脈性肺高血圧症（PAH）では、骨形成因子（BMP）の働きに異常があることが知られていたが、その発症メカニズムについては未だ不明な点が多い。
- ◆BMP シグナルの標的遺伝子の中で、転写因子 ATOH8 の機能を失ったマウスは肺高血圧症の症状を呈すること、培養細胞で ATOH8 が低酸素に対する細胞応答を調節することを明らかにした。
- ◆以上の結果より、肺動脈血管内皮細胞の BMP/ATOH8 経路は、低酸素に対して保護的役割を果たし、肺高血圧症の発症・進展に関わっていることが示唆された。

3. 発表概要：

肺動脈性肺高血圧症（PAH）（注 1）は厚生労働省の指定難病に認定されている病気で、さまざまな原因により心臓から肺に血液を送るための血管（肺動脈）の細い部分（肺細動脈）が異常に狭くなり、肺動脈の血圧が上昇して右心不全をきたします。PAH 患者では骨形成因子（BMP）（注 2）の働きに関係した遺伝子の異常が多く見つかっているため、病気の発症・進展に BMP が関与していると考えられています。しかし、その役割については完全には解明されていませんでした。

今回、東京大学大学院医学系研究科の森川真大 助教、鯉沼代造 准教授、宮園浩平 教授、三重大学の三谷義英 准教授、丸山一男 教授の研究グループは、京都大学の影山龍一郎 教授、スウェーデン ウプサラ大学の Carl-Henrik Heldin（カールヘンリック・ヘルディン）教授らとの国際共同研究で、BMP に関係する新規疾患関連遺伝子候補の網羅的解析を行った結果、これまで詳細な機能が知られていなかった転写因子 ATOH8 を見出しました。さらに、肺動脈血管内皮細胞の BMP から ATOH8 に至る信号伝達経路は、低酸素応答で中心的な役割を果たす HIF-2 α の蛋白量を減らすことで低酸素に対して保護的役割を果たし、肺高血圧症の発症・進展に関わっていることを、ゼブラフィッシュ、マウス、ヒト培養細胞を用いた解析で明らかにしました。本研究の成果は、PAH の発症・進展における BMP の役割の解明につながるのと同時に、将来的な新規治療法の開発に大きく貢献することが期待されます。

本研究は、文部科学省科学研究費補助金、科学研究費助成事業 新学術領域研究「細胞社会ダイバーシティの統合的解明と制御」、グローバル COE プログラム「生体シグナルを基盤とする統合生命学」、などの支援を受けて行われました。

4. 発表内容：

肺動脈性肺高血圧症（PAH）は、さまざまな原因により心臓から肺に血液を送るための血管（肺動脈）の細い部分（肺細動脈）が異常に狭くなり、肺動脈の血圧が上昇して右心不全をきたします。肺動脈性肺高血圧症は、わが国では厚生労働省の指定難病に認定されており、原因解明と有効な治療法の研究開発が急務とされています。肺動脈性肺高血圧症の患者さんでは **BMPR2** という骨形成因子（BMP）の受容体の遺伝子の異常が見つかります。また、**BMPR2** の他にも **BMP** の働きに関係した遺伝子の異常が見つかることが多く、肺高血圧症の発症・進展に **BMP** が重要な役割を果たしていると考えられています。しかし、異常な **BMPR2** 遺伝子を持っていても肺高血圧症を発症する確率は 10%~20%とされており、**BMP** がどのように病気の発症・進展に関与するかは完全には解明されていませんでした。

本研究では、**BMP** に関係する肺動脈性肺高血圧症の新規疾患関連遺伝子候補の網羅的解析を行い、これまで詳細な機能が知られていなかった転写因子 **ATOH8** を見出しました。研究グループは、これまで次世代シーケンサー（注 3）を用いた解析法であるクロマチン免疫沈降シーケンス法（ChIP-seq 法）を駆使して、血管内皮細胞における **BMP** の標的候補遺伝子を同定していました（森川ら 2011 年）（注 4）。それら候補遺伝子の中で、心臓や血管の機能に関係した各種データベースをもとにスクリーニングを行い、転写因子 **ATOH8** に注目しました（図 1）。ゼブラフィッシュやマウスという複数の動物モデルで **ATOH8** の個体レベルでの機能を解析し、**ATOH8** 欠損マウスが肺動脈性肺高血圧症に類似した表現型（右心室圧上昇および肺血管病変形成）を呈することを明らかにしました（図 2）。また、ヒト患者由来サンプルを再解析することで、肺高血圧症患者では **ATOH8** の発現が低くなっていることを示しました。さらに、培養細胞での解析で、**BMP** は **ATOH8** 蛋白の発現を増やすことで低酸素応答（注 5）に対して保護的に機能すること、**ATOH8** は低酸素応答で中心的な役割を果たす **HIF-2 α** の蛋白量を減らすこと、を明らかにしました。

本研究の成果より、肺動脈血管内皮細胞の **BMP/ATOH8** 経路は、低酸素に対して保護的役割を果たし、肺高血圧症の発症・進展に関わっていることが示唆されました。**BMP** が低酸素による血管内皮細胞の障害に対して保護的役割を果たすことは知られていましたが、今回の発見から **ATOH8** と **HIF-2 α** が重要な役割を果たすことが予想されます。これは、**HIF-2 α** 阻害薬が肺動脈性肺高血圧症の動物モデルで治療効果を発揮したという最近の報告にも合致します。これまで、肺の血管を拡げて血液の流れを改善させる新たな治療法の開発により患者さんの予後は改善していますが、**BMP** の機能の異常との関係に踏み込んだ治療法はいまだ開発途上でした。本研究が端緒となり、肺動脈性肺高血圧症の発症・進展における **BMP** の役割の解明がさらに進むと考えられます。また、今回の研究成果は、将来的な新規治療法の開発に大きく貢献することが期待されます。本研究は、文部科学省科学研究費補助金、科学研究費助成事業 新学術領域研究「細胞社会ダイバーシティの統合的解明と制御」、グローバル COE プログラム「生体シグナルを基盤とする統合生命学」、などの支援を受けて行われました。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Science Signaling*」2019 年 11 月 12 日

論文タイトル：The ALK-1/SMAD/ATOH8 axis attenuates hypoxic responses and protects against the development of pulmonary arterial hypertension

著者 : Masato Morikawa, Yoshihide Mitani, Katarina Holmborn, Taichi Kato, Daizo Koinuma, Junko Maruyama, Eleftheria Vasilaki, Hirofumi Sawada, Mai Kobayashi, Takayuki Ozawa, Yasuyuki Morishita, Yasumasa Bessho, Shingo Maeda, Johan Ledin, Hiroyuki Aburatani, Ryoichiro Kageyama, Kazuo Maruyama, Carl-Henrik Heldin*, and Kohei Miyazono*
(*は責任著者)

DOI 番号 : 10.1126/scisignal.aay4430

アブストラクト URL : <https://stke.sciencemag.org/content/12/607/eaay4430>

6. 問い合わせ先 :

東京大学大学院医学系研究科病因・病理学専攻 分子病理学
教授 宮園 浩平 (みやぞの こうへい)

TEL: 03-5841-3356

FAX: 03-5841-3354

E-mail address: miyazono@m.u-tokyo.ac.jp

三重大学医学部附属病院 小児科学
准教授 三谷 義英 (みたに よしひで)

TEL: 059-231-5024

FAX: 059-231-5213

E-mail address: ymitani@clin.medic.mie-u.ac.jp

7. 用語解説 :

(注 1) 肺動脈性肺高血圧症 (PAH) :

心臓から肺に血液を送るための血管「肺動脈」の圧力(血圧)が異常に上昇する病気で、難治性呼吸器疾患(指定難病 86)に認定されています。PAHは原因不明のもの(特発性)、遺伝性のもの、また薬剤や他の病気の合併症としても起こるものに分けられますが、いずれの場合でも発症する原因は解明されていません。遺伝性の PAH では、BMP シグナルに関係する遺伝子 (*BMPR2*, *ACVRL1*, *Endoglin*, *SMAD9*) に変異が認められる場合が多く、病気の発症に BMP シグナルが関係していると考えられていましたが、詳細は明らかになっていませんでした。

(注 2) 骨形成因子 (bone morphogenetic protein、BMP) :

生体内で骨をつくることのできる因子として発見されたタンパク質の一群をこのように呼びます。現在まで、名前の由来となった骨・軟骨形成誘導だけではなく、生体内で多彩な機能を果たすことが明らかにされています。これまで、BMP の機能の異常が、心血管系異常、骨形成異常、鉄代謝異常、腫瘍形成などの多様な病気に関係することが知られています。

(注 3) 次世代シーケンサー :

数千万-数十億 ($1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^9$ 程度) の DNA 断片の塩基配列を同時並行的に決定することができる機器で、近年急速に普及しています。細胞の中で発現する遺伝子の量を計測する RNA

シーケンス法 (RNA-seq 法) や、転写因子などが結合し機能している場所を見つけるクロマチン免疫沈降シーケンス法 (ChIP-seq 法) など、数多くの解析手法が開発されています。

(注 4) 標的遺伝子：

BMP のような細胞から分泌されるタンパク質は、細胞膜上にある受容体と結合することで、細胞の中に情報を伝達し、遺伝子の転写を調節することで機能を発揮します。ある特定の分泌蛋白により発現が調節される遺伝子を標的遺伝子と呼びます。

(注 5) 低酸素応答：

生命や細胞の活動に酸素 (O_2) は必須であり、低酸素状態に置かれた細胞では低酸素誘導因子 (hypoxia-inducible factor、HIF) が誘導されて、血管新生や細胞増殖、糖代謝などの細胞応答が認められます。HIF の中で、HIF-1 α は多くの細胞で発現していますが、HIF-2 α は主に血管内皮細胞で発現が認められます。

なお、HIF を含む細胞の低酸素応答の研究を行った米英の科学者 3 氏が、2019 年のノーベル医学・生理学賞を受賞しました。

8. 添付資料：

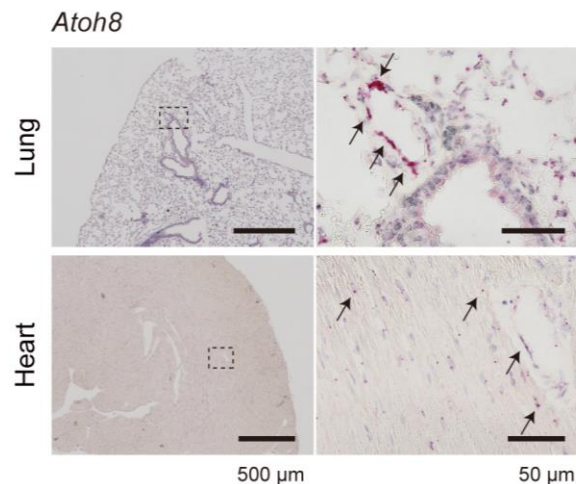


図 1：肺における ATOH8 の発現部位 (Figure 5A より改変)

in situ ハイブリダイゼーション法により、正常マウスの肺と心臓で *Atoh8* mRNA の発現を評価した。左図の点線部分を拡大したのが右図。肺細動脈の内側を覆う血管内皮細胞部分にドット状の染色が認められ (矢印部分)、*Atoh8* が内皮細胞で発現していることが示されている。

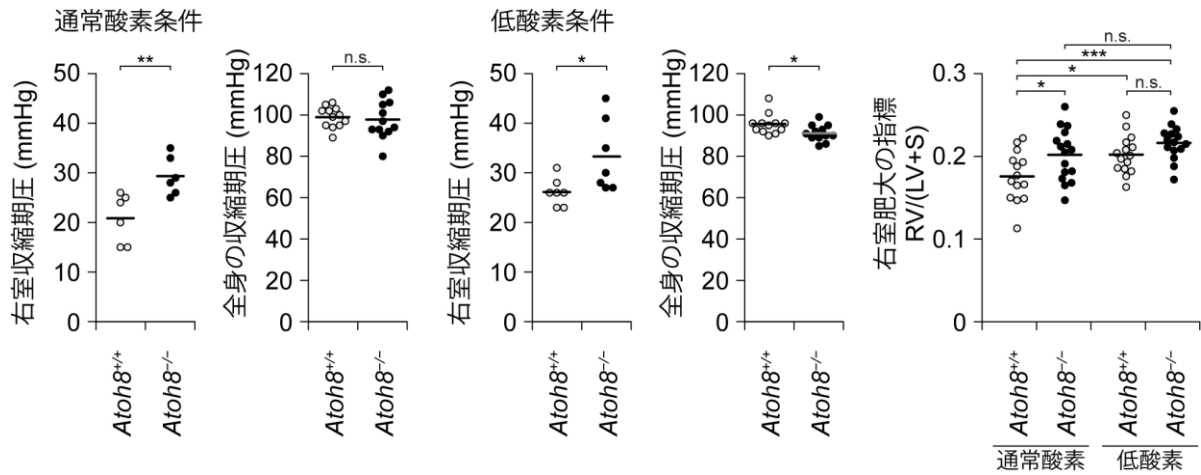


図2 : ATOH8 欠損マウスで認められた肺動脈性肺高血圧症類似の表現型 (Figure 5B-D より改変)

ATOH8 欠損マウス (*Atoh8*^{-/-}) では、全身の血圧は変化がないが、右室収縮期圧の増加が認められる。また、右室肥大の指標である RV/(LV+S)の増加も認められる。