

DNAマイクロアレイを用いた臓器虚血傷害,再灌流傷害における遺伝子発現の解明

●里見 進¹⁾ ◆大河内 信弘¹⁾ ◆佐藤 成²⁾ ◆岡崎 康司³⁾

1) 東北大学大学院医学系研究科先進外科 2) 東北大学医学部附属病院 3) 理化学研究所横浜研究所ゲノム科学総合研究センター

研究の目的と進め方

近年, 心血管系を扱う手術や移植外科の発達によって臓器虚血, 再灌流傷害に対するメカニズムの解明, 予防法または治療法の確立が求められてきている。最近の研究により虚血, 再灌流傷害の過程は単に死に行く過程ではなく, 多くの因子のダイナミックな動態があると報告されている。しかし, この傷害においてはこれらの物質, 経路が複雑に相互作用しながら発現しており, その総括的な動態を見るにはいたっていない。そこでマウス虚血, 再灌流傷害モデルを用いてストレスに対する遺伝子発現のプロファイリングを行うことを第1の目的とした。また, 予め負荷する極短時間の虚血ストレスにより引き続いて起こる虚血, 再灌流傷害を抑制する ischemic preconditioning (IP) という生理現象を用いて傷害を抑制する遺伝子を見つけることを第2の目的とした。

研究の目的と進め方

マウスの肝, 脳, 腎の各臓器に対し虚血, 再灌流傷害モデルを作成し, 血清逸脱酵素, 組織学的検討によりモデルの傷害を評価する。このモデルから臓器を採取しマイクロアレイでの解析を行い遺伝子発現のプロファイリングを行う。

2001 年度の成果

マウス肝において血清逸脱酵素の上昇やアポトーシス細胞数の増加の見られる効果的な傷害モデルを作成した。このモデルから時間毎に臓器を採取しRNAを抽出, マイクロアレイにより解析を行った。時間軸に実験ポイントを増やすことによりマイクロアレイの結果のクラスター解析を詳細に行うことができた。次にIPのモデルをマウスの肝で作成しその傷害抑制効果を確認した後, 同様にマイクロアレイによる解析を行った。こ

の両者を比較することによりIPで誘導されている遺伝子を調べた。上位に誘導されている遺伝子には既知の細胞保護因子も多く含まれこの中にはシグナル伝達に関わるもの, 抗酸化作用を持つもの, シャペロンの作用をもつものの他, 機能不明のものも多く含まれた。

国内外での成果の位置づけ

マイクロアレイを用い虚血, 再灌流傷害の過程での遺伝子発現の動きを調べる試みは未だ報告されていない。また本研究はあくまで傷害抑制因子を見つけ出すゲノム創薬を目指す視点からなされているものであり, 理化学研究所の high performance なマイクロアレイを用いることにより充実した遺伝子発現プロファイリングを行うことができ多数の遺伝子が傷害抑制因子として候補に上がっている。今後バイオアッセイにより候補の遺伝子の機能を検討することにより多くの傷害抑制因子が発見できる期待がある。このような試みは国内外においてもユニークなものと考えている。

達成できなかったこと, 予想外の困難, その理由

当初, 脳, 腎においても同様に解析を進めていく予定であった。脳, 腎では虚血, 再灌流傷害モデルを作成する際に傷害の評価が難しく未だモデルが確立していない。脳に関してはリアルタイムのドップラー血流測定等の技術を導入しモデルの確立を図っていく予定である。

今後の課題

現在まで行ってきた解析を複数の臓器をターゲットにして解析を行う。肝IPモデルとの比較により傷害抑制因子として候補に上がった遺伝子を培養細胞での虚血, 再灌流傷害の系に導入することで *in vitro* での傷害抑制効果を判定する。将来的には *in vitro* で効果があった遺伝子をマウスに導入し生体での効果を調べゲノム創薬へとつながる研究にしていく。

