

FFR group (post-stent FFR > 0.80 just after DES, $n=176$), and inadequate FFR group (post-stent FFR \leq 0.80, $n=42$).

Primary endpoint was major adverse cardiovascular events (MACE) including cardiac death, non-fatal MI, unplanned coronary revascularization, and hospitalization for heart failure. Secondary endpoints were each event rates for 3 years of all-cause mortality, unplanned coronary revascularization, non-fatal stroke, and hospitalization for heart failure. The incidence of MACE or each event on the basis of FFR after DES implantation and the predictor of the events were analyzed.

RESULTS During a follow-up of 31.4 ± 8.7 months, 34 patients (16%) had cardiovascular events. Kaplan-Meier curve showed significantly higher survival free from MACE in the adequate FFR group (15.0% VS 26.8%, $p=0.028$). Inadequate FFR group had higher event rate of non-target lesion revascularization.

CONCLUSION The post-stent FFR \leq 0.80 despite optimal stent deployment was associated with higher rate of MACE and poor long-term prognosis. It is important to recognize the limitation of local therapy such as stents, and post-stent FFR was considered to be an indicator of aggressive optimal medical therapy intervention for long-term prognosis improvement.

14.

筋管細胞モデルにおけるインスリン受容体選択的スプライシングパターンの検討

(医療法人財団順和会 山王病院：糖尿病代謝内分泌内科、糖尿病・代謝・内分泌内科)

○石川 卓也

(糖尿病・代謝・内分泌内科)

諏訪内浩紹、志熊 淳平、酒井 裕幸

三輪 隆、鈴木 亮、小田原雅人

インスリン受容体：IR 以下のインスリンシグナルとインスリン抵抗性の関連について、様々な研究がなされてきた。しかしインスリンシグナルのパスウェイは複雑で未だ明らかになっていない点が多い。これまでの先行研究によって、IR の選択的スプライシングパターンがインスリン抵抗性に関連する可能性を見出してきた。インスリン受容体は、IR

の RNA のエクソン 11 の選択的スプライシングの有無によって、IR-A と IR-B の 2 つのアイソフォームとして存在する。IR-A はインスリン様成長因子 (IGF)-II との親和性が高く、増殖誘導活性を仲介し、インスリン抵抗性の原因になると考えられている。一方、IR-B はインスリンと結合して主に代謝制御活性を仲介するため、細胞および組織で保護的役割を担うと考えられている。細胞・組織によって IR-A と IR-B の比：IR-A/IR-B は一定とされるが、ストレス下においた細胞や癌化細胞株、既知のインスリン抵抗性改善薬処置下の細胞、耐糖能異常を呈する特定疾患患者では、IR-A/IR-B に大きな変化をもたらすことが示されてきた。このように、IR の選択的スプライシングパターンとインスリンのシグナルはインスリン抵抗性の発症や糖尿病の病態に密接に関連していると考えられている。しかしその詳細については未だ不明な点が多い。そこで本研究ではマウス筋管細胞モデルである C2C12 を用い、種々のストレスによるインスリン受容体選択的スプライシングパターン変化を検討した。

15.

ゼブラフィッシュを用いたプロスタグランジン E 受容体 EP4 発現亢進機序の解明と腹部大動脈瘤の治療薬の探索

(細胞生理学)

○谷藤 章太、井上 華、横山 詩子

(病態生理学)

川原 玄理、林 由起子

腹部大動脈瘤 (AAA) は、慢性炎症により血管弾性線維が破壊されて血管壁が脆くなり、血管が瘤化して破裂に至る致死性疾患であるが、進行を抑制する薬物療法は存在しない。AAA で多く産生される PGE₂ は病態の進行に関与しており、ヒト AAA 組織で発現が増加する PGE₂ 受容体 EP4 のシグナル抑制が AAA の治療となる可能性がある (Yokoyama et al., PLoS ONE, 2012; Mamum et al., Physiol Rep, 2018; Yokoyama et al., Pharmacol Rev, 2013)。AAA では、恒常性維持のための EP4 に加え、病態における EP4 発現の過剰亢進が起きていると推測されるが、EP4 発現を亢進する分子機序については未だ不明である。

本研究では EP4 発現亢進の分子機序を解明するため、胚や稚魚が透明であり、蛍光タンパクによる EP4 プロモーター活性の可視化が可能なゼブラフィッシュを使用して、EP4-EGFP レポーターゼブラフィッシュを作製した。ヒト EP4 に相当するゼブラフィッシュ EP4b の上流 2084 bp について検索プログラムを用いてプロモーター領域を検索し、既報のヒト EP4 プロモーター領域 (Seira et al., *Pharmacol Res Perspect*, 2018) と相同性のある領域を含むようプライマーを作製した。長さの異なるインサート DNA (1246 bp, 315 bp) をクローニングした後、Tol2 ベクターに導入してコンストラクトを作製し、野生型ゼブラフィッシュ受精卵に導入したところ、受精後 1 日および 4 日に EGFP 発現が見られた。これらの結果より、ゼブラフィッシュ EP4b のプロモーター領域がヒト EP4 のプロモーター領域と近い位置にあることが示唆された。今後は、この遺伝子改変ゼブラフィッシュを用いて、EP4 発現を亢進する分子機序を検討してゆく予定である。

16.

TRPM7 チャンネル阻害薬 2-APB は N 末端領域に作用して効果を発揮する

(細胞生理学分野)

○井上 華、水本 遼、横山 詩子

(順天堂大学医学部薬理学教室)

村山 尚、小林 琢也

TRPM7 チャンネルは Mg^{2+} 透過性の陽イオンチャンネルで、細胞増殖や遊走において重要な役割を果たしている。いくつかの癌細胞ではその発現量の増加が病態を悪化させることが報告されていることから、TRPM7 チャンネルの阻害は癌治療の標的となり得るが、現在までのところ、TRPM7 特異的阻害薬は存在していない。そこで本研究では、TRPM7 を阻害する既存の化合物 2-aminoethyl diphenylborinate (2-APB) の作用部位を明らかにし、チャンネルゲートの動作原理を予測することにより、より特異性の高い阻害薬を設計できると考えた。TRPM7 の N 末端、C 末端領域は共に細胞質に存在し、C 末端領域にはセリン/スレオニンキナーゼ活性のあるキナーゼドメインがある。我々はまず始めにキナーゼドメインを欠損した TRPM7- Δ kinase 変異体を作製し HEK293

細胞に発現させ、パッチクランプ法により TRPM7- Δ kinase 電流を測定した。細胞外に 2-APB を添加すると、チャンネル電流は有意に抑制されたことから (201.9 ± 27.1 pA/pF and 42.8 ± 7.57 pA/pF, before and after 2-APB application, respectively, $n = 5$)、キナーゼドメインは 2-APB のターゲットではないことが示された。次に N 末端領域の寄与を調べるため、TRPM7 のホモログで 2-APB により活性化される TRPM6 の N 末端領域を用いてキメラチャンネル (M6NTR-TRPM7) を作製した。M6NTR-TRPM7 電流は 2-APB により抑制されなかった (57.3 ± 4.7 pA/pF and 60.3 ± 4.7 pA/pF, before and after 2-APB application, respectively, $n = 5$)。これらの結果は 2-APB の作用部位が TRPM7 の N 末端領域内であり、かつ TRPM6 の N 末端領域とホモロジーの低い部位であることを示唆している。

17.

小胞体ストレス応答の破綻による糖尿病発症機構の解明

(未来医科学研究寄付講座、医学総合研究所運動器科学研究部門)

○藤田 英俊、中島 利博

(疾患モデルセンター)

熊谷 勝義

(未来医科学研究寄付講座)

荒谷 聡子

(生化学)

平本 正樹

(分子病理学)

金蔵 孝介、黒田 雅彦

(医学総合研究所運動器科学研究部門)

松本 滉平

ウォルフラム症候群は、常染色体劣性遺伝性疾患であり、日本における患者数はおよそ 200 人である。代表的な遺伝性の一型糖尿病であり、いまだその根本的な治療法が確立していない疾患でもある。若年で糖尿病が発症し、その原因遺伝子として、Wolfram syndrome 1 (WFS1) が 1998 年に同定されている。WFS1 は主に細胞内小器官である小胞体に存在する膜タンパク質として、小胞体ストレスの減弱に機能していると考えられている。これまでの研究