

# 蔡 忠廷 論文内容の要旨

## 主 論 文

Expression of *Bcl2l1*, *Cclcf1*, *IL-28ra* and *Pias1* in the mouse heart after single and repeated administration of chlorpromazine

マウス心臓の Chlorpromazine 単回/長期投与における  
*Bcl2l1*、*Cclcf1*、*IL-28ra*、*Pias1* 遺伝子発現動態

Legal Medicine. 13 卷 5 号 221-225 2011

Chung-Ting Tsai, Kazuya Ikematsu, Sayaka Sakai,  
Aya Matsuo, Ichiro Nakasono

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻社会医療科学講座法医学分野  
(指導教授: 中園一郎教授)

### 【緒 言】

抗精神病薬を処方されている患者は、心血管死亡率が高く、病因不明の突然死は、処方された抗精神病薬により惹起された不整脈によるものであるという多数の報告がある。抗精神病薬の一つであるクロルプロマジン (CPZ) は、精神疾患の治療薬として使われているが、心筋変性、筋線維の委縮、心筋症、突然死などのような心血管系において、副作用を引き起こすことが知られており、心臓に多大な影響を及ぼすことが報告されている。

以前我々が行った研究は、CPZ が Immediate early genes の発現を誘導し、投与した CPZ 濃度により、これらの発現動態が異なることを明らかにした。CPZ は tumor necrosis factor (TNF) 産生を促進し、TNF の増加により TNF 受容体を介して、アポトーシスのような細胞反応調節に関与する Janus kinase signal transducer and activator of transcription signaling pathway (JSSP) を活性化することが知られている。

本研究は、CPZ が心臓における遺伝子発現に影響を及ぼすと推測し、マウスの心筋細胞を用い、CPZ により誘導される JSSP 関連遺伝子の発現を検証するとともに、マウス心臓における高濃度または低濃度 CPZ 単回投与あるいは 1-4 週間長期投与により誘導される JSSP 関連遺伝子の発現を検証することである。

### 【対象と方法】

実験 1. <Cell culture と semi-array analysis>

HL-1 細胞 (マウスの心筋細胞) に CPZ  $0.01 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  を添加し、0、6、12、24 時間後に回収し、JSSP に関連する 88 遺伝子の発現量を semi-array で検討した。

実験 2. <Animal Treatment>

- a. 6週目のBALB/c マウスにCPZ 7.5 mg/Kg (高濃度)、0.75 mg/Kg (低濃度)を単回または1、2、3、4週間腹腔内投与し、最終投与120分後に心臓を採取した。Controlとして、生理食塩水を同量投与した。
- b. Reverse transcription and quantitative real-time PCR  
採取した心臓からtotal RNAを抽出し、逆転写にてcDNAを得た。その後、実験1にて有意な発現量の変動がみられた27の遺伝子をquantitative real-time PCR法で測定した。内部標準は18 ribosomal proteinを用いた。
- c. 統計解析は、Pair-wise t-testsを用いた。

## 【結果】

実験1： JSSPに関連する88遺伝子の中で、0、6、12、24時間で27遺伝子に有意な発現量の変化が認められた。

実験2： 27遺伝子のうち、アポトーシスに関与する*B cell lymphoma 2 like 1* (*Bcl2l1*)、*Cardiotrophin-like cytokine factor 1* (*Cclcf1*)、*Interleukin-28 receptor alpha* (*IL-28ra*)、*Protein inhibitor of activated STAT-1* (*Pias1*)において有意な発現変動がみられ、*Bcl2l1*の発現レベルは、CPZ高濃度で単回あるいは1週間連続投与において有意な発現量の増加が確認された。*Cclcf1*、*IL-28ra*それぞれの発現変動は、2-3週間、あるいは2週間の長期低濃度CPZ投与により増加することが確認された。また*Pias1*発現レベルは、2週間の長期低濃度CPZ投与において増加した。

## 【考察】

抗アポトーシスに関連する*Bcl2l1*に関して、CPZ高濃度で単回あるいは1週間長期投与において有意な発現量の増加が確認されたが、低濃度CPZ投与においては発現変動はみられなかった。それゆえ、我々は*Bcl2l1*の発現が、高濃度CPZ投与により、心筋のアポトーシスを抑制するために一時的に誘導され、一方、2-4週間長期投与においては、抗アポトーシスが維持されないために心筋のアポトーシスが惹起されるのではないかと推測した。

*Cclcf1*、*IL-28ra*それぞれの発現変動は、2-3週間、あるいは2週間の長期低濃度CPZ投与により増加することが確認された。これらの遺伝子は、抗アポトーシスに関連する機能を持ち、2-3週間の低濃度CPZ投与が、*Cclcf1*、*IL-28ra*それぞれの発現を誘導することでアポトーシスを抑制していることが考えられた。

*Pias1*はアポトーシスを誘導する機能を持ち、2週間の長期低濃度CPZ投与により一時的に発現の増加が確認された。それゆえ2週間の低濃度CPZ投与により誘導された*Pias1*の発現増加に伴うアポトーシスが、同じく2週間の低濃度CPZ投与により誘導された*Cclcf1*、*IL-28ra*の発現増加により、抑制された可能性を示唆した。

本研究は、アポトーシスに強く関与するJSSP関連遺伝子において、CPZがその心臓における発現様態を変動させ、CPZ投与濃度によりこれらの発現誘導が変化することを明らかにした。さらに本研究で得られた知見は、CPZにより誘導される心筋症の病態生理を明らかにするとともにCPZ処方により惹起される心臓突然死の診断におおいに貢献できるものと考えられる。