
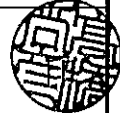







学位論文審査の結果の要旨

|   |         |       |   |
|---|---------|-------|---|
| 審査区分<br>課・   | 第 366 号 | 氏名    | 鈴木 龍 介  |
| 審査委員会委員   | 主査氏名    | 高橋 尚彦 |  |
|   | 副査氏名    | 穴井 博文 |  |
|   | 副査氏名    | 白石 裕士 |  |
| 論文題目<br>Manifestations of gene expression profiles in human right atrial myocardium caused by mechanical stretch<br>(ヒト右心房心筋に対する機械的伸展によって制御を受ける遺伝子発現プロファイルに関する研究)   |         |       |   |
| 論文掲載雑誌名<br>Heart and Vessels  |         |       |   |
| 論文要旨：【目的】心房細動の履歴を有さず、右心房の拡大を示す患者心房心筋の遺伝子発現変化の包括的解析を行った。【方法】2012年から2019年に熊本赤十字病院で開心術を受けた患者から右心房(右心耳)の一部を採取した。採取した心房組織から全RNAを抽出しDNAマイクロアレイ解析をおこなった。術前心エコー図検査記録を用いて右心房(RA)サイズを測定してRAサイズが{通常群、中等度拡大群、拡大群}の3群に分け、{通常群、拡大群}の2群間で全トランスクリプトーム解析を行った。【結果】DNAマイクロアレイプラットフォームを使用して、RA通常群11名とRA拡大群10名のサンプルから心筋伸展によって制御される遺伝子群を特定した。全ヒト遺伝子のうち、9,274個の遺伝子がフィルタリング後に選択され、明確に発現した335遺伝子を同定した。火山プロット分析によりRA拡大群10名において心筋伸展により差次的に発現制御を受けたmRNAを特定した。次に、これらの遺伝子を倍数変化の順序で再プロットして23個の発現減少遺伝子と26個の発現増加遺伝子を明らかにした。【考察】生体力学的ストレスは、心房細動基質の促進、および心房細動関連遺伝子プログラムの誘導を伴う心房細動の発症につながるが、機械的伸展によって活性化される分子信号が心房細動関連の誘因といかに関係するかは不明である。本研究は伸展した心房組織のヒト遺伝子プロファイルの最初の全トランスクリプトーム解析となった。最近のデータマイニングレポートにより、心房細動患者と洞調律患者の心房組織で差次的に発現する75の発現増加遺伝子と81の発現減少遺伝子が明らかになっているが、本研究で示す49の遺伝子データ(二重解析遺伝子1を含む)は、NPPB(BNP)を除いて、そのデータリストに含まれていなかった。さらに、本研究で特定された49の遺伝子には、イオンチャネル関連遺伝子は含まれていない。心房細動の持続によって心房筋は拡大し、更に電気的リモデリングを受けることが広く知られているが、本結果から心房筋の機械的伸展刺激自体は心房の電気的リモデリングを惹起しないことが示された。更に本結果により、心房伸展が心房細動における電気的リモデリングの直接の機序に相当しないことも示唆された。またSTRING解析の結果、発現増加遺伝子と発現減少遺伝子にリンクするinteractor遺伝子群(細胞質遺伝子シャペロニン等)の関与も明らかになった。【結論】本研究により、慢性的な心房筋伸展刺激(心房拡大)によってイオンチャネル関連遺伝子の発現が制御を受けないことが示された。更に心房筋の長期的伸展はこれまで報告されたことのない細胞質シャペロニン遺伝子群の関与を明らかにした。心筋の過剰伸展に対するストレス応答関連遺伝子と見なされるこれらの遺伝子群は長期的伸展における心筋の収縮力低下に対する代償的支援に関わる可能性が示唆された。<br>本研究は、右心房の拡大を示す患者心房心筋の遺伝子発現変化の包括的解析を行うことで、心房筋の長期的伸展はこれまで報告されたことのない細胞質シャペロニン遺伝子群の関与を明らかにした。学術的にも意義あるものと考えられ審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。 |         |       |   |

最終試験

の結果の要旨

学力の確認

|  |         |         |   |
|--|---------|---------|---|
| 審査区分<br>課・論  | 第 366 号 | 氏 名     | 鈴木 龍 介  |
| 審 査 委 員 会 委 員  | 主査氏名    | 高 橋 尚 秀 |  |
|  | 副査氏名    | 久 井 博 文 |  |
|  | 副査氏名    | 白 石 裕 士 |  |
| <p>学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 右房サイズ以外の影響が混入してこないようにどのような工夫をしたか。</li> <li>2. Table 2で、右房サイズが拡大している群で30%、心臓弁膜症がある。どのような弁膜症であったのか。</li> <li>3. 右房サイズが拡大している患者の活動電位を記録したら、どのような波形が記録されたと想定されるか。</li> <li>4. アレイ解析だけでは説得力に欠ける気がする。機能解析が必要ではないか。</li> <li>5. 対象から女性を除外した理由は何か。</li> <li>6. Normal size RA群は虚血心筋群、つまり虚血による遺伝子発現を見ていることにならないのか。</li> <li>7. Normal size atrium群では、右冠動脈近位部の病変を有する症例があったのか。</li> <li>8. Normal size、moderately、enlargeに分類していたが、多くの症例が占めるmoderatelyの群が正常群で、normal size群はむしろ、正常より小さい群とは言えないのか。</li> <li>9. 2群でRA容量は大きく異なるが、実際に心筋の進展はあったのか、組織学的に検討されたのか。</li> <li>10. Fig. 1Aで発現強度はnormal size RA群の平均に対しての倍率で示されている。多くの症例が占めるmoderatelyの群が正常群と考えての比較であれば結果が違うのではないか。</li> <li>11. Fig1. Bの灰色のドットは、Ion channelに関わるものが同定されていないということではないのか。</li> <li>12. 心房が伸展する状態から心房細動に至るのはどれくらいの割合なのか、疫学的な知見はあるか。</li> <li>13. 心房の伸展が見られるのであれば、解析群に加えた方が心房の伸展に共通の経路に関わる遺伝子を解析しやすくなるということはないのか。</li> <li>14. 心房の伸展の一般的な原因は何か。</li> <li>15. RNAseqではなくmicroarrayを選んだのはなぜか。microarrayで遺伝子変化のあった遺伝子についてqPCRやNorthern blottingなどによる確認は行ったか。</li> <li>16. スポットされているunknownの遺伝子はどいったものか。microarrayのスポットしてある遺伝子はどのようにして調製されているのか。</li> <li>17. RAのサイズの群分けの基準は何か。</li> <li>18. Figure.1BにおいてSignal intensityは何を表すのか。</li> <li>19. 心房の伸展がおきた患者では、心筋細胞が線維芽細胞に置き換わっているせいで遺伝子発現の変化が検出されている可能性はあるか？そのためにhistologyを見た方が良いのではないか。</li> <li>20. 発現に変化のあった遺伝子に関して、これまでに機械的な伸展刺激に関する遺伝子はないか？変化のあった遺伝子の改変動物モデルを作製する予定はないか。</li> <li>21. CCT5に注目した理由は何か。STRING解析とは何か。</li> </ol> <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p> |         |         |   |

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 鈴木 龍介

## 論 文 題 目

**Manifestations of gene expression profiles in human right atrial myocardium caused by mechanical stretch**

(ヒト右心房心筋に対する機械的伸展によって制御を受ける遺伝子発現プロファイルに関する研究)

## 要 旨

## 【緒言】

心房の拡大は心房細動の発生の誘因の1つであることが知られているが、心房の伸展がいか  
にして心房細動基質に関わるかは明らかではない。これまでの先行研究により、心房細動に  
よって惹起させる遺伝子発現プロファイルは明らかにされつつあるが、それは心房細動の持  
続の結果として調節を受けた遺伝子プロファイルであり、心房筋の拡大・伸展そのものがい  
かに心筋細胞の全トランスクリプトーム応答に関わるかは不明である。本研究では心房細動  
の履歴を有さず、右心房の拡大を示す患者心房心筋の遺伝子発現変化の包括的解析を行った。

## 【研究対象および方法】

2012年から2019年に熊本赤十字病院で開心術を受け、文書によって同意を得た患者から右  
心房(右心耳)の一部を採取した。女性、高齢(>70歳)、比較的若い年齢(<50歳)、慢性  
心不全、糖尿病、炎症性疾患、内分泌疾患、代謝性疾患、血液透析を必要とする腎疾患、ス  
テロイド治療歴、電解質異常、及び発作性/持続性/永続性心房細動の患者は除外した。採取

した心房組織から全 RNA を抽出し DNA マイクロアレイ解析をおこなった。術前心エコー図検査記録を用いて右心房 (RA) サイズを測定して RA サイズが {通常群、中等度拡大群、拡大群} の 3 群に分け、{通常群、拡大群} の 2 群間で全トランスクリプトーム解析を行った。

### 【結果】

DNA マイクロアレイプラットフォームを使用して、RA 通常群 11 名と RA 拡大群 10 名のサンプルから心筋伸展によって制御される遺伝子群を特定した。全ヒト遺伝子のうち、9,274 個の遺伝子がフィルタリング後に選択され、明確に発現した 335 遺伝子を同定した。火山プロット分析により RA 拡大群 10 名において心筋伸展により差次的に発現制御を受けた mRNA を特定した。次に、これらの遺伝子を倍数変化の順序で再プロットして 23 個の発現減少遺伝子と 26 個の発現増加遺伝子を明らかにした。

### 【考察】

生体力学的ストレスは、心房細動基質の促進、および心房細動関連遺伝子プログラムの誘導を伴う心房細動の発症につながるが、機械的伸展によって活性化される分子信号が心房細動関連の誘因といかに関係するかは不明である。本研究は伸展した心房組織のヒト遺伝子プロファイルの最初の全トランスクリプトーム解析となった。最近のデータマイニングレポートにより、心房細動患者と洞調律患者の心房組織で差次的に発現する 75 の発現増加遺伝子と 81 の発現減少遺伝子が明らかになっているが、本研究で示す 49 の遺伝子データ (二重解析遺伝子 1 を含む) は、NPPB (BNP) を除いて、そのデータリストに含まれていなかった。さらに、本研究で特定された 49 の遺伝子には、イオンチャネル関連遺伝子は含まれていない。心房細動の持続によって心房筋は拡大し、更に電気的リモデリングを受けることが広く知られているが、本結果によって心房筋の機械的伸展刺激自体は心房の電気的リモデリングを惹起しないことが示された。更に本結果により、心房伸展が心房細動における電気的リモデリングの直接の機序に相当しないことも示唆された。また STRING 解析の結果、発現増加遺伝子と発現減少遺伝子にリンクする interactor 遺伝子群 (細胞質遺伝子シャペロン等) の関与も明らかになった。

### 【結論】

本研究により、慢性的な心房筋伸展刺激 (心房拡大) によってイオンチャネル関連遺伝子の発現が制御を受けないことが示された。更に心房筋の長期的伸展はこれまで報告されたことのない細胞質シャペロン遺伝子群の関与を明らかにした。心筋の過剰伸展に対するストレス応答関連遺伝子と見なされるこれらの遺伝子群は長期的伸展における心筋の収縮力低下に対する代償的支援に関わる可能性が示唆された。