

論文の内容の要旨

論文題目 左室心筋と右室心筋のストレス応答性の違い

氏名 假屋 太郎

本論文は 1 年以内に出版予定であるので、刊行に支障が生じない範囲内でのその要旨を公表する。

【背景と目的】これまでの心不全の基礎医学研究では主に左室心筋が扱われてきたが、マウスに左心不全研究で用いられる薬剤による心不全ストレスを与えた際の、同一個体由来の左右心筋のストレス応答によるトランスクリプトームの変化を網羅的に解析した先行研究はない。臨床的な観察と先行する基礎的検討からは、左室心筋と右室心筋は心不全における分子生物学的シグナル伝達様式が異なることが予想される。本研究ではマウスの左室心筋と右室心筋において、主に薬剤によるストレスに対するストレス応答に差異があることを仮説 1 とし、この仮説 1 での差異形成の鍵となる遺伝子が存在することを仮説 2 とし、これらの仮説 1、2 を検討することを目的とした。

【方法と結果】まず探索的に各種遺伝子改変マウスで右室心筋と左室心筋の、*Bnp*, *Anp*, *Rcan1* mRNA 発現量を検討し、野生型マウス、*calcineurin A β* ノックアウトマウス、*transient receptor potential canonical channel (Trpc)3*・*Trpc6* ダブルノックアウトマウス、心筋特異的

Gαq 過剰発現マウスの全てにおいて左室優位に *Bnp* mRNA が発現していることを示し、左右心室筋での *Bnp* mRNA 発現の違いは心不全シグナルの鍵分子である calcineurin や TRPC 3/6 を介さないことを示した。さらに、angiotensin II (432 μg/kgBW/day、14 日間) 投与マウス (Ang II 群) と vehicle 投与マウス (vehicle 群) に対して、冠灌流による心筋細胞単離を行い右室または左室の心筋細胞ペレットを得て、そのペレットについて RNA sequencing (RNA-seq) によるトランスクリプトーム解析を行った。22134 遺伝子の発現量の定量的結果、vehicle 投与群で左右心筋細胞に発現量の差を有する遺伝子を同定した。これらの遺伝子群に対して gene ontology 解析を行うと、左室には”regulation of GTPase mediated signal transduction”や”intracellular signal cascade”のカテゴリーに含まれる遺伝子が、右室では”negative regulation of signal transduction”などのカテゴリーに含まれる遺伝子が多く発現していた。また、Ang II 群と vehicle 群の発現量の比較と gene ontology 解析の結果、angiotensin II 刺激により右室で発現が増加し左室では不変である遺伝子群の関連するシグナル経路(これをシグナル経路 A とする)と、左室で発現が増加し右室では不変である遺伝子群の関連するシグナル経路には明確な差を認めた。さらに、angiotensin II 2 週間持続投与等の心筋ストレスに対して、マウス心筋組織でも RNA-seq で認めた右室優位のシグナル経路 A の活性化を確認した。

さらに、遺伝子 *X* (論文内容の刊行まで非公表とする) の mRNA が vehicle 投与群の左室心筋と右室心筋で発現量の差を認めたため、遺伝子 *X* がこの右室心筋優位のシグナル経路 A

活性化に関与しうるかを検討した。ラット新生仔初代培養心筋細胞に遺伝子 *X* の siRNA をトランスフェクションして遺伝子 *X* をノックダウンしたうえで、シグナル経路 A を惹起する刺激を与えたところ、遺伝子 *X* のノックダウンによってシグナル経路 A が抑制され、遺伝子 *X* が心筋細胞におけるシグナル経路 A の活性化を調節していることが示された。

【結語】 マウスの左室心筋と右室心筋は心不全ストレスに対するシグナル応答に差異がある事を示した。培養心筋細胞におけるストレス応答を遺伝子 *X* が調節することから、遺伝子 *X* が左室心筋と右室心筋のストレス応答性の違いに寄与している可能性を示した。