

審査の結果の要旨

氏名 藤田 寛奈

本研究は心筋症の予後層別化を目指し、ヒト心不全の分子病態を一細胞レベルで解明すべく、重症心不全に対し左室補助装置(LVAD)植え込みまたは心臓移植を受けた患者の心臓検体を用いた一核トランスクリプトーム解析及び心筋一細胞トランスクリプトーム解析プラットフォームを確立、また一核及び一細胞解析から得られた知見と患者の臨床像との関連を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 一核トランスクリプトーム解析手法を確立するためのマウス心筋を用いた予備実験により、一核解析を行うためのサンプル調整条件を検討し、一細胞解析と一核解析によるトランスクリプトームの相関及び相違の評価を行った。また遺伝子発現プロファイルに基づいた細胞種の再分類可能性を検証し、一核解析により心臓を構成する各細胞種を包括的に解析対象とすることができることを確認した。
2. ヒト心臓検体を用いた一核トランスクリプトーム解析を行い、心不全患者 3 検体の心臓とコントロール 2 検体の心臓における遺伝子発現プロファイルの変化を心筋細胞、線維芽細胞、内皮・免疫細胞の各細胞種について検討した。心筋細胞は心不全に伴う遺伝子発現変化として以下の応答を示す心筋 1-3 の 3 つの細胞群に分類された。  
心筋 1 : DNA ダメージや MAPK 経路に関連する遺伝子群の発現上昇  
心筋 2 : 骨格筋収縮に関連する遺伝子群の発現上昇  
心筋 3 : 小胞体トレスに関連する遺伝子群の発現上昇  
心筋細胞で共通する変化として、心不全群の心筋では心筋収縮に関わる遺伝子群の発現が上昇していた。線維芽細胞及び内皮・免疫細胞では心不全に伴って心筋収縮関連遺伝子の発現上昇を認めた。また全細胞種に共通する変化として、心不全により転写・翻訳関連遺伝子の発現低下を認めた。
3. 心筋における遺伝子発現プロファイルの変化をより詳細に解析すべく、患者 16 検体、コントロール 2 検体について心筋一細胞トランスクリプトーム解析を行い、心不全に伴って出現する胎児型、炎症・DNA ダメージ応答型、線維芽細胞型の 3 種類の心筋細胞を見出した。胎児型心筋では骨格筋収縮関連遺伝子発現が上昇しており、一核解析における心筋 1 の細胞に相当すると考えられた。一核解析での心筋 2 に相当すると考えられる DNA ダメージ応答型の心筋は LMNA 変異 DCM 患者の心筋で多くみられる傾向を認めた。
4. DNA ダメージ蓄積の評価とし poly (ADP) ribose (PAR)の免疫染色を LVAD 装着後の心機能改善(LVRR)がみられた症例および LVRR がみられなかった症例に対して行っ

たところ、LVRR がみられなかった症例で PAR が多く陽性となる傾向が認められた。心不全早期の検体である右室心筋生検検体において PAR 染色を行い、PAR の陽性率が低いことが高確度で LVRR を予測しようと報告した知見に矛盾せず、より新興期の心不全でもその予後や治療応答性に DNA ダメージの蓄積が関連する指標である可能性を見出した。

以上、本論文は心不全患者の心臓検体を用いた一核及び一細胞トランスクリプトーム解析により、心不全に伴う細胞種ごとの遺伝子発現状態の変化及び、特に心筋細胞において心不全の予後に関与する可能性のある経路として DNA ダメージ・炎症反応経路の存存を明らかにした。本研究はこれまで解析が難しかった患者心臓検体を用いた詳細な分子病態の研究を可能とし、心不全、心筋症の予後の層別化、個別化医療の実現に重要な貢献をなすと考えられる。

よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。