



Title	Identification of genes related to heart failure using global gene expression profiling of human failing myocardium
Author(s)	関, 庚徳
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54109
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	ミン 関 庚 徳
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 6 6 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 22 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Indentification of genes related to heart failure using global gene expression profiling of human failing myocardium (ヒト不全心筋の網羅的遺伝子発現解析による心不全関連遺伝子の同定)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 望 月 直 樹 (副査) 教 授 澤 芳 樹 教 授 楽 木 宏 実

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

心不全は進行性の疾患であり、 β 遮断薬やアンギオテンシン変換酵素阻害薬を初めとした薬物療法の発達によりその予後は改善したものの、今なお左室補助循環装置や心移植の適応となる重症例は増加している。これまでも新たな診断法、治療法の開発にあたり、マイクロアレイ法等を用いた心不全関連遺伝子の探索が行われてきたが、多くは疾患群対正常群といった2群比較の研究デザインが用いられてきた。そこで我々は、新たな心不全関連遺伝子の抽出を目的として、心不全の重症度を連続的に評価する指標である平均肺動脈圧、左室駆出率、BNP値との相関を利用したマイクロアレイ法による検討を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

1. 候補遺伝子の抽出

BatistaもしくはDor手術の適応となった重症心不全患者12例の切除心筋からRNAを抽出し、正常心筋2例のRNAとともにAffymetrix HG-U95 GeneChipを用いて網羅的遺伝子発現プロファイルを得た。患者群の術前の臨床データから平均肺動脈圧、左室駆出率、BNP値を収集し、これらの値と相関する遺伝子群を抽出した。加えて疾患特異性や臓器特異性（心臓での高発現）などのマイクロアレイデータベースを合わせて解析し、12個の候補遺伝子を抽出した。

2. 候補遺伝子のスクリーニング

< *in vitro* >

抽出された12個の遺伝子について、アデノウイルスベクターを作成し、ラット新生児心筋細胞を用いた強制発現系でスクリーニングを行った。各遺伝子を強制発現させ、 $[^3\text{H}]$ 標識フェ

ニルアラニンの取込みを用いたアミノ酸代謝の評価、Alamar Blueを用いた細胞障害性の評価、細胞形態の評価を行った。これらの結果から、*MYLK3*, *GPR37L1*, *GPR35*, *NBC1*, *MMP23B*の5遺伝子を*in vivo*での評価対象に選択した。

< *in vivo* >

選択された5遺伝子の遺伝子改変マウスを作成し、特に心血管系の表現形について解析を行った。17週齢の遺伝子改変マウスについて、心エコー解析、観血的血行動態測定、心・肺重量の測定を行った。*Gpr37l1*, *Gpr35*の遺伝子改変マウスでは血圧に有意な差が認められ、*Mylk3*, *Gpr37l1*の遺伝子改変マウスでは心体重比に有意な差が認められた。

〔 総 括 〕

従来の2群間比較のみでなく、連続した値をとる疾患重症度の指標を用いて、*MYLK3*, *GPR37L1*, *GPR35*といった新たな心不全関連候補遺伝子を抽出した。臨床データを用いた遺伝子発現プロファイル解析は、マイクロアレイ法を用いた網羅的解析において、効率的な疾患関連遺伝子の探索を可能にする方法と考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

心不全患者は今なお増加しており、新たな心不全関連遺伝子の同定が求められている。これまでもマイクロアレイ法を用いた心不全関連遺伝子の探索が行われてきたが、多くは正常群対疾患群といった2群比較であった。本研究では、心不全重症度を示す連続指標である肺動脈圧、左室駆出率、BNP値を用い、これらとの相関を検討して疾患関連遺伝子の候補を選別した。また疾患特異性や心臓高発現を示すマイクロアレイデータベースも用いながら12の候補遺伝子を抽出した。これら12遺伝子について、ラット心筋細胞および遺伝子改変マウスを用いたスクリーニングを施行し、*MYLK3*, *GPR37L1*, *GPR35*の3遺伝子について心血管系における有意な変化を見出した。これらの結果は、新たな心不全関連候補遺伝子を抽出したのみでなく、臨床上得られた連続指標を用いて効率的に疾患候補遺伝子を選別しうることを示唆しており、学位の授与に値すると考えられる。