The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Btg2 is a Negative Regulator of Cardiomyocyte Hypertrophy through a Decrease in Cytosolic RNA
Author(s)	増村, 雄喜
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59537
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、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

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	増村　雄喜
論文題名 Title	Btg2 is a Negative Regulator of Cardiomyocyte Hypertrophy through a Decrease in Cytosolic RNA （Btg2は細胞質RNA量減少を介して心筋肥大を負に制御する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

心不全は現代社会において依然予後不良な疾患であり、その分子メカニズムの解明は喫緊の課題である。心筋細胞肥大は外的負荷により生じる適応反応であるが、過度な負荷はやがて適応機構の破綻につながり、最終的に心不全を惹起する。心筋細胞において、タンパク質の合成・分解を制御する機構は今まで多く研究されてきたが、RNA量制御の機能的意義は未だに明らかではない。転写因子c-Myc (Myc)は強力な細胞増殖作用を有する癌原遺伝子で、心筋細胞肥大へ関与するとされ、そのメカニズムとして、Mycによるタンパク質代謝やDNA代謝の亢進が報告されている。また、近年MycによるRNA合成亢進作用が細胞増殖に関与することが明らかとなっている。本研究は、c-Mycを培養した心筋細胞に導入することにより、RNA合成が顕著に促進された代謝亢進モデルを作成し、心筋細胞における刺激応答性のRNA量制御機構を明らかにすることを目的とした。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

我々はラット培養心筋細胞を用いて、細胞内で合成されたRNAに、5-ethynyl uridine (EU) を取り込ませて蛍光標識し、イメージングサイトメトリーを用いてシングルセルでのRNA定量化方法を確立した。培養心筋細胞においてMycを過剰発現させたところ、心筋細胞においてもMycによってRNA合成が著明に亢進されていることが明らかとなった。mRNA転写に対するMycの直接的な作用を明らかにするために、Myc強制発現下の心筋細胞におけるMycおよびRNA Polymerase II (Pol II) の全ゲノム分布を、クロマチン免疫沈降法＋高速シークエンス解析（ChIP-seq）を用いて網羅的に解析した。我々はPol IIの集積を定量化するアルゴリズムを作成し、Myc強制発現により、遺伝子プロモーター領域および遺伝子座上にPol IIが誘導されることを明らかにした。直接的なMycの標的遺伝子として3108の遺伝子を同定し、特に顕著にPol IIが誘導される946個のMyc標的遺伝子にはリボソーム構成やRNAプロセッシングに関連する遺伝子が多く含まれていた。これらの遺伝子のなかから、我々は過去に報告の無いMyc標的遺伝子であるBtg2を同定した。増殖細胞や腫瘍細胞において、抗増殖作用を有すると言われているBtg2は、アドレナリン刺激下での培養心筋細胞や、圧負荷による急性心不全モデルのマウス心臓組織おいて、急速にかつ一過性に発現が誘導された。Btg2を心筋細胞に強制発現させたところ、心筋細胞の縮小化を認め、逆に、shRNAを用いてBtg2をノックダウンさせたところ、アドレナリン刺激による心肥大化が増幅したことから、Btg2が心筋細胞における心肥大抑制作用を有することが示唆された。質量分析を用いてBtg2の結合タンパクを検出したところ、mRNA分解に関わる脱アデニル化複合体の一連の構成タンパクを同定した。Btg2を心筋細胞に強制発現させたところ、核内のRNA量には変化を認めず、細胞質内のRNA量のみが特異的に低下し、逆に、Btg2をノックダウンさせると、アドレナリン刺激による細胞質内のRNA集積が促進された。以上より、Btg2の心肥大抑制作用には、Btg2がRNA分解を促進し、細胞質内のRNA集積を抑制することが関与していると示唆された。

〔総　括(Conclusion)〕

我々は、培養心筋細胞における全ゲノム網羅的解析・イメージング解析を用いて、心筋細胞におけるMycの新たな標的遺伝子Btg2を同定し、Btg2は細胞質RNA量減少を介して心筋肥大を負に制御することを明らかにした。これらの知見は、心筋細胞肥大におけるRNA量調節機構の機能的重要性を明らかとするものである。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　増村　雄喜

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	坂田 泰史
	副　査	大阪大学教授	菊池 章
	副　査	大阪大学教授	河原 行郎

論文審査の結果の要旨

心筋の肥大は外部からの刺激に応じて生じ、高血圧性心疾患を初めとする心不全の重要な病態の1つです。心筋肥大の過程におけるDNAやタンパク質合成については、これまで多くの研究が行われてきましたが、RNA代謝の関与は明らかではありませんでした。

代表的な癌原遺伝子であるc-Mycを心筋細胞に発現させた独自のRNA代謝亢進モデルを作成し、単細胞イメージング及び次世代シークエンサー解析を駆使した全ゲノムマッピングから、心筋細胞におけるRNA量の動態を明らかにしました。今回、Mycの新たな標的遺伝子として、RNA代謝を負に制御する因子であるBtg2を同定しました。Btg2はRNA脱アデニル化に関わるCCR4-NOT複合体との結合を介して細胞質のRNA量を負に制御し、心筋細胞肥大を退縮させることを明らかとしました。

今回の論文審査の結果、申請者増村雄喜が大阪大学博士（医学）学位授与に値すると判断します。