



Title	Identification of the Mtus1 Splice Variant as a Novel Inhibitory Factor Against Cardiac Hypertrophy
Author(s)	伊藤, 慎
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61609
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	伊藤 慎
論文題名 Title	Identification of the Mtus1 Splice Variant as a Novel Inhibitory Factor Against Cardiac Hypertrophy (新たな心肥大抑制因子であるMtus1遺伝子バリエントの同定とその機能解析)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 近年、エクソンアレイ法や次世代シーケンズ技術の開発により、エクソンレベルでの網羅的遺伝子解析が可能となった。この技術により、ヒト遺伝子の95%が選択的スプライシングを受けていることが明らかとなり、スプライシングの異常はガンや神経変性疾患の原因となることが分かってきた。しかし、心疾患でのスプライシング解析の報告はほとんどなく、スプライシング変化と心疾患の病態との関連は不明である。そこで我々は、網羅的スプライシング解析を行い、心肥大に関連する新規スプライスバリエントを同定することを目的とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 我々は、マウス大動脈縮窄(TAC)による圧負荷心モデルを作製し、心臓からRNAを抽出後、エクソンアレイ法を用いて網羅的スプライシング解析を行った。その結果、圧負荷心でスプライスパターンが変化する253遺伝子を同定した。さらに、マイクロアレイ法などの従来の手法で同定できない新規心疾患関連遺伝子を同定するため、遺伝子量に変化がなく、スプライシングパターンのみ変化する遺伝子群に着目した。その中で、心臓に高発現しているMtus1(mitochondrial tumor suppressor 1) 遺伝子の解析を行った。Mtus1遺伝子は3つのスプライスバリエント(Mtus1A, B, C)をコードするが、今まで心疾患との関連は報告されていなかった。RT-PCRによる遺伝子発現解析では、健康心と比較しMtus1遺伝子全体の発現量に変化はなかったが、バリエント別の解析ではMtus1Aの増加とMtus1Cの減少を認めた。また、ウェスタンブロッティングでも同様の結果が得られた。Mtus1Aの発現量は、他の肥大心モデル(TAC心肥大モデル、アンジオテンシンII・フェニレフリン浸透圧ポンプモデル)の解析により、左室壁肥厚の程度に相関し増加しており、心肥大への関与が推測された。 次に、新生児仔ラット培養心筋細胞を用いて、Mtus1Aバリエントの機能解析を行った。アデノウイルスを用いてMtus1Aを強制発現させたところ、フェニレフリン刺激による心筋細胞肥大が抑制され、心肥大シグナルであるERKのリン酸化が抑制されていた。一方、siRNAを用いてMtus1Aをknockdownしたところ、心筋細胞肥大が増強され、ERKのリン酸化が増加していた。Mtus1Cバリエントの肥大への関与はみられなかった。Mtus1Aによる心肥大抑制機序を解明するため、細胞内局在を調べたところ、Mtus1Aはミトコンドリアに局在することが明らかになった。肥大刺激によってミトコンドリアで産生された活性酸素(ROS)は、ERKシグナルを活性化させ、心肥大を促進することが知られている。我々の研究でも、フェニレフリン刺激によりミトコンドリアでのROSの産生が亢進したが、Mtus1Aを強制発現させることによりROSの産生が抑制されることがわかった。 さらに、我々は心筋特異的Mtus1Aトランスジェニックマウス(Tg)を作成し、表現型の解析を行った。Mtus1A Tgマウスは、wild typeマウスと比較し、血圧や脈拍に変化がみられなかったが、心重量と左室壁厚が有意に減少していた。また、Mtus1A Tgマウスは、TACやフェニレフリン負荷による心肥大モデルでも心重量と壁厚の増加が抑制されていた。	
〔総 括(Conclusion)〕 我々は、網羅的スプライス解析の結果、新たな心肥大抑制因子であるMtus1遺伝子を同定した。そのバリエントであるMtus1Aは、ミトコンドリアでのROSの産生を抑制し、それに続くERKシグナルの活性化を抑制することで心肥大を抑制することが明らかとなった。本研究により、Mtus1のスプライシング制御が新たな創薬ターゲットになる可能性が示唆された。また、スプライス解析が心疾患の新たな病態解明に繋がると考えられる。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 伊藤 慎			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	高島 成二
	副 査	大阪大学教授	坂田 泰史
	副 査	大阪大学教授	吉森 保
論文審査の結果の要旨			
心疾患でのスプライシング解析の報告はほとんどなく、スプライシング変化と心疾患の病態との関連は不明である。本研究では、網羅的スプライシング解析の結果、心肥大でスプライスパターンが変化するMtus1遺伝子を同定した。Mtus1のスプライスバリエントであるMtus1Aは、心肥大の程度に伴い、発現が増加していた。ラット心筋細胞を用いたin vitro解析では、Mtus1Aは①ミトコンドリアに局在すること、②心肥大刺激による活性酸素の産生を抑制すること、③ERKシグナルを抑制し心肥抑制因子として働くこと を明らかにした。また、in vivo解析でも、心臓でのMtus1A過剰発現により、心肥大が抑制されることを明らかにした。本研究により、スプライシングの変化が心疾患の病態に関係することがわかった。さらに、Mtus1Aが心肥大・心不全の治療の新たなターゲットとなる可能性が示唆され、学位の授与に値すると考えられる。			