



Title	Aberrant accumulation of TMEM43 accompanied by perturbed transmural gene expression in arrhythmogenic cardiomyopathy
Author(s)	四宮, 春輝
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/87735
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	四宮 春輝
論文題名 Title	Aberrant accumulation of TMEM43 accompanied by perturbed transmembrane gene expression in arrhythmogenic cardiomyopathy (TMEM43 S358L変異蛋白の構造異常と核膜蓄積は心臓内遺伝子発現の局所的差異を減弱させ不整脈原性心筋症の病態形成に寄与する)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 不整脈原性心筋症は、心機能障害や致死的不整脈をもたらす遺伝性の心疾患である。心臓組織所見の特徴として、心外膜側から心内膜側への進行性の置換性線維化が認められる。これまで複数の原因遺伝子変異が報告されているが、それぞれの変異によって引き起こされる病態メカニズムは未だ完全には解明されていない。本研究では、不整脈原性心筋症家系の原因遺伝子の同定とその病態メカニズムの解明を目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 発症者16人を含む不整脈原性心筋症家系から得たゲノム検体を用いて、全エクソーム解析により病原性バリエーションを探索し、Transmembrane Protein 43 (TMEM43) p. S358Lを原因として同定した。病態解明のため、CRISPR/Cas9システムを用いてラットに患者と同一のバリエーションを導入し、TMEM43 S358Lノックイン (KI) ラットを作製した。2年に渡る長期的な表現型解析により、このKIラットはヒト疾患と類似する心室性不整脈および心筋外層を起点とする心筋組織の置換性線維化を呈することを明らかにした。 KIラットの心臓組織を用いた蛋白質発現解析において、野生型には見られず、S358L変異体のみに認められるTMEM43蛋白質の新規N型糖鎖修飾を見出した。また、薬剤による小胞体ストレス刺激や加齢による小胞体ストレスの増加に伴い、S358L変異体蛋白質の糖鎖修飾が増加した。続いて、生化学的解析により4回膜貫通型蛋白であるTMEM43 S358L変異体の糖鎖修飾は膜トポロジーの変化に起因することを明らかにした。また、免疫染色法及び細胞内分画法を用いたTMEM43蛋白の細胞内局在の検討において、野生型TMEM43は心筋細胞の小胞体膜に主たる局在を示すのに対し、糖鎖修飾を受けたS358L変異体は核膜上へ異常集積することを明らかにした。 さらに、S358L変異体蛋白質の糖鎖修飾及び局在変化とヒトの病態との関連を調べるために、家系内の罹患者2名から疾患特異的ヒトiPS細胞株を樹立し、同細胞株由来心筋細胞を作製した。分化後通常状態では、健康者由来と罹患者由来の細胞で、蛋白質発現および細胞内局在に明らかな違いは認めなかったが、小胞体ストレス刺激により、罹患者由来の細胞においてのみ、ラット心筋と同様の、S358L変異体蛋白質の糖鎖修飾ならびに核膜への異常集積を認めた。 最後に、これらのTMEM43 S358L変異体蛋白質の生化学的性質が心筋症病態に及ぼす影響を検討するために、TMEM43野生型およびKIラットの心内層と心外層の組織を採取し、RNAシーケンスによるトランスクリプトーム解析を実施した。遺伝子発現の階層的クラスタリングにおいて、それぞれのグループは、WTとKIの遺伝子型によってではなく、内層、外層の部位によって大きく遺伝子発現パターンが分かれていた。そこで、心臓の内層と外層で発現が有意に変動している遺伝子を調べたところ、WTラットでは462個の遺伝子が検出されたのに対し、KIラットでは253個の遺伝子に減少していた。続いて、これら心内層と外層で発現が変化していた遺伝子のパスウェイ解析を行ったところ、4つのKEGGパスウェイが、KIラットでは検出されず、WTラットのみで検出された。そのうち、「Adrenergic signaling in cardiomyocytes」パスウェイに含まれる心機能に関わる9遺伝子の発現の局所差は、WTラットに比べてKIラットで顕著に減少していた。以上の結果から、TMEM43野生型のラットで認められる心臓内層、外層間での特徴的な遺伝子発現パターンが、KIラットでは一部消失していることが示された。 〔総 括(Conclusion)〕 若年心臓突然死を引き起こす不整脈原性心筋症の家系に対する遺伝子解析からTMEM43 p. S358Lを原因として同定した。TMEM43 p. S358L変異は、その変異体蛋白質の膜トポロジー異常および核膜への異常蓄積を引き起こすとともに、心筋外層、内層間で差異のある特徴的な遺伝子発現プロファイルに影響を与えることで、不整脈原性心筋症の病態形成に寄与する。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 四宮 春輝			
論文審査担当者		(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授	坂田 泰史
	副 査	大阪大学教授	南 沢 章
	副 査	大阪大学教授	三善 英知
論文審査の結果の要旨			
本論文は、若年での心機能障害や致死的不整脈による心臓突然死を特徴とする不整脈原性心筋症の家系から、TMEM43遺伝子の変異を原因として同定し、さらに疾患モデル動物及び疾患特異的iPS細胞を用いて、同変異により引き起こされる病態の分子機序を明らかにしたものである。本研究は、分子レベルから細胞、組織、個体にいたるまで、これまで未解明であったTMEM43遺伝子変異が引き起こす生化学的、生理学的変化を多面的な視点で明らかにしている。とりわけ、ヒト疾患に類似した表現型を有する新規疾患モデル動物の樹立や、生化学的解析に基づく変異蛋白の構造変化及び分子修飾の同定は、今後の同病態に対する治療法の開発に向けても非常に重要な知見であると考えられる。申請者は、筆頭著者として、主導的にかつ粘り強く研究を進めることでこのような結果を得るに至っており、学位の授与に値すると考えられる。			