



Title	Isogenic pairs of induced-pluripotent stem-derived endothelial cells identify DYRK1A/PPARG/EGR1 pathway is responsible for Down syndrome-associated pulmonary hypertension
Author(s)	杉辺, 英世
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/98612">https://hdl.handle.net/11094/98612</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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	杉辺 英世
論文題名 Title	Isogenic pairs of induced-pluripotent stem-derived endothelial cells identify <i>DYRK1A/PPARG/EGR1</i> pathway is responsible for Down syndrome-associated pulmonary hypertension ( <i>DYRK1A/PPARG/EGR1</i> パスウェイがダウン症候群の血管内皮細胞の機能不全をひき起こし、肺高血圧症発症の素因となる)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 ダウン症候群 (DS) 患者は肺動脈性肺高血圧症 (PAH) を高率に合併する。その原因として血管内皮細胞 (EC) の機能障害がこれまで示唆されてきたが、21トリソミー (T21) のECにおける分子学的メカニズムについては未だ不明であった。本研究ではT21-ECの詳細な細胞機能、ミトコンドリア機能を解析し、その機能障害とPAH発症の関連性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)〕 iPS細胞はDS患者から2細胞株 (T21, T21')、健常コントロールから2細胞株 (HC_1, HC_2)、T21 iPSCをcre/loxP systemで正常核型に修正したisogenic pairの1細胞株 (cDi21) を用いて実験を行った。全てのiPSCは同一プロトコールで90%以上の十分な純度でECに分化可能であった。cDi21, HC_1, HC_2 ECの3群において基本的な細胞機能である増殖能、接着能、遊走能、アポトーシス、血管造成能が同等であることを確認した。cDi21, T21, T21' ECにおける細胞機能、ミトコンドリア機能を比較したところ、T21-ECは有意に血管造成能が低く、早期アポトーシス細胞の割合が多く、ミトコンドリアROSが高く、ATP産生能が低いことが示された。cDi21, HC_1, HC_2, T21, T21' ECにおいてRNAseqを行ったところ、T21-ECの発現プロファイルはそれ以外と大きく異なることがtSNE、pathway analysisで示された。Differential expression genesではT21-ECで <i>EGR1</i> の発現が上昇していることが明らかとなった。si <i>EGR1</i> およびpioglitazoneによりT21-ECの <i>EGR1</i> の発現を抑制させると、細胞およびミトコンドリア機能はcDi21 ECと同等まで回復したことから <i>EGR1</i> の発現上昇はT21-ECの細胞機能、ミトコンドリア機能障害の原因であることが示唆された。また、 <i>DYRK1A</i> inhibitorをT21-ECに投与すると、 <i>PPARG</i> の発現が上昇し、 <i>EGR1</i> の発現が低下し、さらに細胞およびミトコンドリア機能が回復した。このことからT21-ECにおいて <i>DYRK1A</i> の発現上昇が <i>PPARG</i> の発現低下を介して <i>EGR1</i> の発現を上昇する新規pathwayを発見した。さらに、 <i>DYRK1A</i> が上述の細胞機能、ミトコンドリア機能障害を引き起こす唯一の遺伝子であることを示すために <i>DYRK1A</i> を発現するプラスミドベクターを用いてcDi21, HC_1, HC_2 ECにoverexpressionさせると、T21-ECが示した同様の細胞機能、ミトコンドリア機能障害を呈することが明らかとなった。最後に、PAHを有するDS患者の肺組織のECにおいて <i>EGR1</i> の免疫染色を行うと、 <i>EGR1</i> の発現が有意に亢進していることが明らかとなった。	
〔総 括(Conclusion)〕 <i>DYRK1A/PPARG/EGR1</i> pathwayはDS患者におけるEC機能障害に寄与し、DS特異的なPAHの病態と密接に関連している可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 杉辺 英世		
論文審査担当者	(職) 氏 名	
	主 査 大阪大学教授	北 島 康 司
	副 査 大阪大学教授	高 島 成 二
	副 査 大阪大学教授	坂 田 泰 史

論文審査の結果の要旨

本論文はダウン症候群の血管内皮細胞機能障害と肺高血圧症発症の新たな分子学的メカニズムを解明した論文である。これまでの研究では、他の肺高血圧症と同様にダウン症候群患者においても血管内皮細胞機能障害が肺高血圧症の発症に多大な影響を与えていると臨床研究から推察されていたが、その詳細が不明であったためにダウン症候群に特異的な肺高血圧症の治療は困難であった。本論文において、患者由来iPS細胞から血管内皮細胞に分化させたことで詳細な細胞およびミトコンドリア機能の解析を行うことが可能となった。さらにRNAseqを用いてそれら機能障害を引き起こす遺伝子である*EGR1*を同定した。また、*EGR1*の発現上昇が21番染色体上にある遺伝子の*DYRK1A*に制御されていることを同定した。この研究結果からダウン症候群における肺高血圧症の新たな治療ターゲットを提案することができた。

以上により学位の授与に値すると考えられる。