

学位論文審査の結果の要旨

| | | | |
|--|-------|------|---|
| 審査区分 課・論 | 第715号 | 氏名 | 吉村 健司 |
| 審査委員会委員 | | 主査氏名 | 高橋 尚秀  |
| | | 副査氏名 | 手嶋 泰之  |
| | | 副査氏名 | 吉村 健  |
| <p>論文題目 Detection and identification of factors in the atrium responsible for blood pressure regulation in patients with hypertension (高血圧症患者の血圧制御に寄与する心房由来因子の探索)</p> <p>論文掲載雑誌名 Heart and Vessels</p> <p>論文要旨:【目的】心房細動患者の血栓塞栓症発症予防のために行われる左心耳切除術によって、高血圧患者では術後に高血圧症が改善することが報告されている。レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系や血中カテコラミン濃度が変動することが推測されているが、その詳細な機序は未だ不明である。高血圧症患者における左心耳の血圧調節因子の解明を本研究の目的とした。【研究対象および方法】2014年～2021年に開心術とともに左心耳切除術を併施した症例のうち、高血圧合併例と高血圧非合併例の左心耳をそれぞれ6例ずつ選択した。(50～70歳台の男性、糖尿病合併なし、慢性心房細動有病、甲状腺機能正常、ステロイド内服歴なし、血液浄化療法歴なし、)を症例の選択条件とした。各症例の左心耳における遺伝子発現量をRNAseq法を用いて解析した。各遺伝子の発現量を遺伝子長とリード量で正規化した transcripts per million (TPM)で評価し、高血圧群と非高血圧群の発現プロファイルの違いについて多変量解析を行った。Fold Change 1.4以上の発現変動遺伝子についてパスウェイ解析を実施した。更に、自然発症高血圧モデルラットを用いて左心耳切除術およびSham手術を施行し、術前・術後の血圧の変動および、術前と左心耳手術およびSham手術後の血清エンドセリン-1の濃度をELISA法で比較した。【結果】高血圧群と非高血圧群の患者背景はそれぞれ、平均年齢:68.7±4.4歳 vs 62.0±6.4歳、術前収縮期血圧:127.3±10.5 mmHg vs 115.7±6.3 mmHg、拡張期血圧:72.3±16.5 mmHg vs 67.7±4.9mmHgであった。RNAseq法によって得られた成果に基づき主成分分析を実施した結果、第3主成分と第9主成分で高血圧群の主成分ベクトルに同じ傾向(第3主成分≤0, 第9主成分≤0)がみられた。この傾向に含まれる主成分スコアを持つ遺伝子群を抽出し、Fold Change 1.4の遺伝子群でパスウェイ解析を実施したところ、高血圧症の関連遺伝子として18個の遺伝子が抽出された。このうち血圧制御に関わると想定される因子として血管収縮因子であるEDN1(エンドセリン-1)に着目した。心房筋に起因する血圧制御因子がエンドセリン-1であるという仮説を立て、自然発症高血圧モデルラットの左心耳切除によってその検証を試みた。8週齢の雄性高血圧モデルラットの左心耳切除術およびSham手術を行った結果、左心耳切除術を行ったラットの血圧はSham手術を行ったラットよりも低下した。【考察】ヒト左心耳を用いたRNA-Seq(トランスクリプトーム解析)では高血圧関連として抽出された遺伝子の中に血管収縮因子であるEDN1が含まれた。従って高血圧患者では左心耳におけるエンドセリン-1の分泌の亢進が高血圧の調節因子であることが示唆された。ラットを用いた動物実験でも左心耳切除により高血圧の抑制される傾向がみられ、血中に分泌される左心耳由来のエンドセリン-1が左心耳切除により低下することで血圧降下作用に寄与していることが想定される。【結語】高血圧患者における左心耳切除術後の血圧低下に関わる制御因子として左心耳由来エンドセリン-1が関与していることが示唆された。</p> <p>本研究では、高血圧患者における左心耳切除術後の血圧低下に関わる制御因子として左心耳由来エンドセリン-1が関与していることを示唆された。このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p> | | | |

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

| | | | |
|--|----------------|-------|---------|
| 審査区分 ・論 | 第 715 号 | 氏 名 | 吉 村 健 司 |
| 審 査 委 員 会 委 員 | 主査氏名 | 高橋 尚秀 | |
| | 副査氏名 | 手嶋 長之 | |
| | 副査氏名 | 寺村 侑 | |
| <p>学位申請者は本論文の公開發表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 左心耳は心臓の内分泌器官と言われるが、どのようなホルモンを産生し分泌しているのか。これまでにわかっていることを述べよ。 2. ラットの左心耳は小さく切除するのにかなりの技術を要したと思うが、どのような点を工夫したか。この実験系は、すでに報告はあるのか。 3. ヒト左心耳EDN1 mRNA発現とADRA mRNA発現との関連は過去には報告されていないと記しているが、今回のこの優位な相関をどう解釈したのか。 4. 今回、遺伝子発現と、想定されるパスウェイでストーリーを作っているが、タンパクやその機能の解析はしていない。時間がたくさんあったとして、今回のストーリーを証明するとしたらどのような実験が必要か。 5. パスウェイ解析の結果がTable2に示されているが、エンドセリン1はp値が0.32で有意差がない。それでもエンドセリンを血圧低下の主要因子として着目した根拠は何か。 6. エンドセリンは全身の血管内皮から産生されている。血管内皮としては一部である左心耳を切除するだけで血中のエンドセリンが低下して血圧が下がるというのはどういうことか。 7. 心臓手術後は血圧が低い患者も多い。これらの患者も左心耳切除後にはさらに血圧が低下するのか。 8. 心房細動や高血圧があるために左心耳が変性してより多くのエンドセリンを産生するようになり切除により血圧が下がるのか、あるいは基礎疾患がなくても左心耳を切除すれば血圧が下がるのか。 9. RNA-seq解析から同定されたMYOCはどのような分子機能が知られているのか。 10. TPM比較による発現解析、また主成分分析の両者においてもMYOCが有意な変動を示す血圧調節因子としてリストアップされているのにも関わらず、解析候補として除外した理由は何か。 11. 高血圧自然発症ラットの左心耳や血管においてET-1の転写が亢進しているのか？また、エンドセリン代謝に関わる酵素群に関しても転写・翻訳レベルでの変動があるのか？ 12. 高血圧自然発症ラットの左心耳切除7日目において、血中エンドセリン濃度が有意に低下しているものの血圧の変動はない。このことから、左心耳切除による血圧低下はエンドセリンと関連性がないと結論付けられるが、どのように考察するのか？ <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p> | | | |

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 吉村 健司

論 文 題 目

Detection and identification of factors in the atrium responsible for blood pressure regulation in patients with hypertension

(高血圧症患者の血圧制御に寄与する心房由来因子の探索)

要 旨

【目的】心房細動患者の血栓塞栓症発症予防のために行われる左心耳切除術によって、高血圧患者では術後に高血圧症が改善することが報告されている。レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系や血中カテコラミン濃度が変動することが推測されているが、その詳細な機序は未だ不明である。高血圧症患者における左心耳の血圧調節因子の解明を本研究の目的とした。

【研究対象および方法】2015年～2020年に開心術とともに左心耳切除術を併施した症例のうち、高血圧合併例と高血圧非合併例の左心耳をそれぞれ6例ずつ選択した。{50～70歳代の男性、糖尿病合併なし、慢性心房細動有病、甲状腺機能正常、ステロイド内服歴なし、血液浄化療法歴なし、}を症例の選択条件とした。各症例の左心耳における遺伝子発現量をRNAseq法を用いて解析した。各遺伝子の発現量を遺伝子長とリード量で正規化した transcripts per million (TPM)で評価し、高血圧群と非高血圧群の発現プロファイルの違いについて多変量解析を行った。Fold Change 1.4以上の発現変動遺伝子についてパスウェイ解析を実施した。更に、自然発症高血圧モデルラットを用いて左心耳切除術およびSham手術を施行し、術前・術後の血圧の変動および、術前と左心耳手術およびSham手術後の血清エンドセ

リン-1の濃度をELISA法で比較した。

【結果】 高血圧群と非高血圧群の患者背景はそれぞれ、平均年齢：68.7±4.4歳 vs 62.0±6.4歳、術前収縮期血圧：127.3±10.5 mmHg vs 115.7±6.3 mmHg、拡張期血圧：72.3±16.5 mmHg vs 67.7±4.9mmHgであった。RNAseq法によって得られた成果に基づき主成分分析を実施した結果、第3主成分と第9主成分で高血圧群の主成分ベクトルに同じ傾向(第3主成分 ≤ 0 , 第9主成分 ≤ 0)がみられた。この傾向に含まれる主成分スコアを持つ遺伝子群を抽出し、Fold Change 1.4の遺伝子群でパスウェイ解析を実施したところ、高血圧症の関連遺伝子として18個の遺伝子が抽出された。このうち血圧制御に関わると想定される因子として血管収縮因子であるEDN1(エンドセリン-1)に着目した。心房筋に起因する血圧制御因子がエンドセリン-1であるという仮説を立て、自然発症高血圧モデルラットの左心耳切除によってその検証を試みた。8週齢の雄性高血圧モデルラットの左心耳切除術およびSham手術を行った結果、左心耳切除術を行ったラットの血圧はSham手術を行ったラットよりも低下した。

【考察】 ヒト左心耳を用いたRNA-Seq(トランスクリプトーム解析)では高血圧関連として抽出された遺伝子の中に血管収縮因子であるEDN1が含まれた。従って高血圧患者では左心耳におけるエンドセリン-1の分泌の亢進が高血圧の修飾因子であることが示唆された。ラットを用いた動物実験でも左心耳切除により高血圧の抑制される傾向がみられ、血中に分泌される左心耳由来のエンドセリン-1が左心耳切除により低下することで血圧降下作用に寄与していることが想定される。

【結語】 高血圧患者における左心耳切除術後の血圧低下に関わる制御因子として左心耳由来エンドセリン-1が関与していることが示唆された。