

氏名	権 哲源		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 9480 号		
学位授与年月日	令和2年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on Vasoconstriction and Cardiac Hypertrophy Controlled by $\alpha 1A$ -Adrenergic Receptor ($\alpha 1A$ アドレナリン受容体が制御する血管収縮と心肥大に関する研究)		
主査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	谷本啓司
副査	筑波大学准教授	博士 (薬学)	木村圭志
副査	筑波大学講師	博士 (農学)	石田純治

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、循環器組織で発現するGタンパク質共役型受容体 (GPCR) であるアドレナリン受容体 $\alpha 1A$ サブタイプ ($\alpha 1A$ -AR) と、循環器疾患の病態形成への関連に注目し、遺伝子欠損マウスの作製や表現型の解析、薬理実験や遺伝子発現解析を行い、その結果を記述したものである。第一章で著者は、序論として、循環器疾患の中でも、著者が着目している「血管攣縮」と「妊娠高血圧病態時の心肥大」に関する研究背景が述べられている。

先行研究では、血管平滑筋細胞特異的APJ過剰発現 (SMA-APJ) マウスを用いた阻害剤実験により、血管平滑筋細胞 (VSMCs) におけるAPJが $\alpha 1A$ -ARと協調して異常な血管収縮 (攣縮) を引き起こす可能性が示唆されている。しかし、薬理的アプローチによる選択的阻害剤の投与のみでは、両受容体の関与を断定することはできないと考えられていたため、著者は第二章において、遺伝子編集技術CRISPR/Cas9システムを活用して、 $\alpha 1A$ -ARを遺伝的に欠損したノックアウト (KO) マウスを確立し、その後、SMA-APJマウスと交配させてSMA-APJ/ $\alpha 1A$ -AR KOマウスを樹立した過程を述べている。SMA-APJ/ $\alpha 1A$ -AR KOマウスでは、異常な血管収縮が抑制されることから、2つの受容体の機能的相互作用を明らかにしている。

第三章において著者は、妊娠高血圧病態下の心肥大に関する研究を行っている。妊娠高血圧症候群は、全妊婦の8~10%で認められる疾患であり、患者の約4割において求心性の左心室肥大を認める。一方で、本病態における心肥大が、どのような分子機序で進展するかについては不明な点が多かった。著者はまず、野生型 (WT) 妊娠マウスと、妊娠高血圧モデル (PAH) マウスの出産前日における心臓のトランスクリプトーム解析を行い、PAH肥大心臓において $\alpha 1A$ -ARのmRNA発現が低下していることを明らかにしている。さらに、昇圧ホルモンとして知られるアンジオテンシンII (Ang II) を投与したWT妊娠マウスでも、同様の発現低下を見出している。そこで、この $\alpha 1A$ -AR発現低下が、心肥大進展にどのような役割

を果たすのかを解明するために、第二章で確立した $\alpha 1A$ -AR KOマウスを活用することで、新たにPAH/ $\alpha 1A$ -AR KOマウスを樹立している。その結果、PAH/ $\alpha 1A$ -AR KOマウスはPAHと比較して、心収縮能や血圧、心筋細胞の繊維化レベルに変化は認められないものの、心重量が増加し、心筋細胞の面積が拡大することを明らかにしている。さらに、Ang IIを投与した非妊娠 $\alpha 1A$ -AR KOマウスにおいても、Ang II 誘導性の心肥大が増悪することを明らかにしている。以上の結果より、PAHマウスの心臓では、Ang IIの増加によって、 $\alpha 1A$ -ARの発現が低下し、この $\alpha 1A$ -AR発現の低下が心肥大の進展に関与することを考察している。

審 査 の 要 旨

GPCR は細胞膜に局在する 7 回膜貫通型受容体であり、多様な生命現象に関与することから、その単独の機能に注目した研究が数多くなされてきている。近年、GPCR は他の受容体との協調を介して生体機能を制御することがわかりつつある。 $\alpha 1A$ -AR は、主に血管や心臓で高く発現するアドレナリン受容体サブタイプであり、筋収縮や血圧制御に重要な役割を担っている。しかし、 $\alpha 1A$ -AR と他の GPCR との協調的な作用に注目した研究は報告されていない。

本審査対象論文で著者は、CRISPR/Cas9 システムを利用して、「血管平滑筋細胞特異的 APJ 過剰発現 (SMA-APJ) マウス」と「妊娠高血圧モデル (PAH) マウス」の 2 つの遺伝的背景で $\alpha 1A$ -AR を欠損したマウスを樹立し、血管と心臓における $\alpha 1A$ -AR と他の GPCR が協調する新しい生体制御機構を議論している。

血管に注目した研究では、SMA-APJ/ $\alpha 1A$ -AR KO マウスを樹立し、APJ と $\alpha 1A$ -AR の協調的な作用が異常な血管収縮を誘導することを明らかにしている。本研究成果は、異常な血管収縮の発症に APJ と $\alpha 1A$ -AR の協調作用が関与することを示しており、不明な点が多い血管攣縮の発症メカニズムの一端を解明したという点で、重要な意義を持つと判断できる。

さらに著者は、PAH/ $\alpha 1A$ -AR KO マウスを樹立することで、妊娠高血圧病態下で増加するアンジオテンシン II が、心臓における $\alpha 1A$ -AR の発現低下を介して、心肥大を誘導する可能性を示している。これらの知見は、妊娠高血圧病態下の心肥大進展メカニズムに対して、 $\alpha 1A$ -AR を介した新たな分子機序の存在を提示するものである。一方で、アンジオテンシン II が、どのようにして $\alpha 1A$ -AR の発現を低下させるかについては、解明されるべき点として残されている。

本論文で著者は、ゲノム編集技術や RNA-シーケンス法を活用し、 $\alpha 1A$ -AR 欠損マウスを用いた *in vivo*、*ex vivo* 実験に取り組むことで、循環器疾患における $\alpha 1A$ -AR の重要性を新たに提示している点が評価できる。

令和2年1月14日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。