

氏名	吉澤 ひかり
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第1322号
学位授与の日付	2023年3月12日
学位論文題名	Characterization of the <i>MG828507</i> lncRNA Located Upstream of the <i>FLT1</i> Gene as an Etiology for Pre-Eclampsia 「妊娠高血圧腎症の病因としての <i>FLT1</i> 遺伝子上流域に存在するlncRNA <i>MG828507</i> の検討」 Journal of Clinical Medicine. 2022;11:4603
指導教授	倉橋 浩樹
論文審査委員	主査 教授 吉川 哲史 副査 教授 藤井 多久磨 教授 土田 邦博

論文内容の要旨

【緒言】

妊娠高血圧腎症は、妊娠中に高血圧とともに多臓器障害を呈する重篤な産科疾患の一つである。その病因は未だ解明されていないが、sFLT-1等の抗血管新生因子が増加し、母体の血管内皮障害を生じることが病態の中心であることが判明している。近年、noncoding RNAが疾患原因遺伝子の発現に影響を与える可能性が報告されている。我々は、正常妊婦と妊娠高血圧腎症患者における胎盤のRNA-seqによる網羅的遺伝子発現解析を行い、long noncoding RNA (lncRNA)として*FLT1*遺伝子上流域に存在する*MG828507*について検討した。

【方法】

施設内倫理委員会の承認後に、研究内容に同意の得られた重症妊娠高血圧腎症妊婦(以下HDP群)39例、正常コントロール妊婦(以下NC群)38例を対象とし、全例帝王切開時に胎盤の一部を採取した。

HDP群6例、NC群6例の胎盤組織を用いてRNA-seqを施行し、lncRNAに着目して解析した。比較定量解析の結果から*MG828507*を選定し、HDP群39例とNC群38例の胎盤における*MG828507*および*FLT1*発現を定量RT-PCRにて検証した。次に、胎盤トロホプラスト細胞株を用いて*MG828507*の強制発現ならびに*MG828507*と*FLT1*の発現抑制(ノックダウン)を行い、双方に与える影響について検討した。また、同領域に存在する2つの一塩基多型 (SNVs) (rs4769613, rs12050029) およびshort tandem repeat (STR) (rs149427560)と*MG828507*発現の関連について解析した。さらに、*MG828507*発現と臨床パラメーターである母体血圧、出生児体重および胎盤重量との相関について解析した。

【結果】

RNA-seq 解析によりHDP群で有意に発現が増加するlncRNAとして *FLT1*の約80kb上

流域に存在する*MG828507*を同定した。*MG828507*と*FLT1*の胎盤における発現を両群で比較したところ、両者ともHDP群で有意な増加(各 $p<0.01$)を示すとともに、有意な正の相関を認めた($r=0.88$, $p<0.01$)。次に、胎盤トロホプラスト細胞に*MG828507*を強制発現したところ、*FLT1*発現に有意な増減は確認されず、またノックダウンにおいても両者に有意な変化は示さなかった。一方、*MG828507*発現と同領域に存在するバリエーションの解析では、2つのSNVsに関連は示さなかったが、STR (rs149427560)においてはサイズの異なる4つのバリエーションのうち、HDP群でジェノタイプ476/476、アレル476における*MG828507*発現の有意な増加を認めた(各 $p=0.03$, $p=0.01$)。さらに臨床パラメーターとの相関解析では、特に出生児体重および胎盤重量と*MG828507*発現に有意な負の相関が認められた(各 $r=-0.72$, $p<0.01$, $r=-0.56$, $p<0.01$)。

【考察】

本研究においてRNA-seq 解析にて同定された*MG828507*は、妊娠高血圧腎症の胎盤で発現が増加し、*FLT1*遺伝子と発現量が相関することが示されたが、*FLT1*遺伝子上流域に存在して同じトポロジカルドメイン内にあるため、*FLT1*と相互作用し、エンハンサー機能を担う可能性が示唆された。胎盤トロホプラスト細胞を用いた*in vitro*の実験においては、発現調節機能は明らかにされなかったが、使用した細胞株の*FLT1* mRNAレベルは非常に低く、生体内で予測される*FLT1*-I調節機能をすでに失っている可能性が考えられた。

一方、同じ*FLT1*遺伝子上流域に存在するSTR (rs149427560)と*MG828507*発現に関連が示されたことより、このSTRが*MG828507*の量的形質遺伝子座として機能し、*FLT1*発現を調節して妊娠高血圧腎症の発症に関与している可能性が考えられた。また、*MG828507*発現と出生児体重ならびに胎盤重量に強い相関を認めたため、*MG828507*が妊娠高血圧腎症の重症度に関わる極めて重要な胎盤因子の1つである可能性が示唆された。

【結語】

FLT1 遺伝子上流域のlncRNA である*MG828507*およびSTR (rs149427560)は、*FLT1*の調節機能に関与し、胎児・胎盤発育の重症度に影響すると考えられた。lncRNAと*FLT1*のさらなる検討によって妊娠高血圧腎症における遺伝学的病因を解明できる可能性がある。

論文審査結果の要旨

妊娠高血圧症への関与が示唆されている*FLT1*遺伝子の制御機構を解明するために、対象患者および正常妊娠由来の胎盤を用いてRNA-seqによる網羅的遺伝子発現解析を行った。特にnoncoding RNA に注目して解析を進め、long noncoding RNAとして*FLT1*遺伝子上流域に存在する*MG828507*を選定した。その後患者群39例と正常妊娠群38例の胎盤における両遺伝子発現を定量RT-PCRにて検証したうえで、胎盤トロホプラスト細胞株を用いて*MG828507*の強制発現ならびに*MG828507*と*FLT1*の発現抑制実験を行ったが、残念ながら期待する結果は得られなかった。一方、*MG828507*発現と同領域に存在するバリエーションの解析では、rs149427560においては*MG828507*発現の有意な増加を認めるバリエーションが同定された。また、臨床パラメーターとの相関解析では、出生児体重および胎盤重量と*MG828507*発現に有意な負の相関が認められた(各 $r=-0.72$, $p<0.01$, $r=-0.56$, $p<0.01$)。本研究は、*FLT1*の調節機構を明らかにするとともに、それが胎児・胎盤発育の重症度に影響することを示した画期的な研究成果である。全ての実験が論理的に計画されており、審査委員会での質疑応答も的確になされたことから、博士論文として十分に値すると判断した。