
3. プレスリリース

深水プロジェクトの金俊達助教・深水昭吉教授による論文 “Calreticulin and integrin alpha dissociation induces anti-inflammatory programming in animal models of inflammatory bowel disease” が Nature Communications 誌に掲載されました。

柳沢プロジェクトの山城義人助教・柳沢裕美教授による論文 “Role of thrombospondin-1 in mechanotransduction and development of thoracic aortic aneurysm in mouse and humans.” が Circulation Research 誌に掲載されました。

深水プロジェクトの深水昭吉教授らによる論文 “PRMT1 deficiency in mouse juvenile heart induces dilated cardiomyopathy and reveals cryptic alternative splicing products” が iScience 誌に掲載されました。

平成 30 年 5 月 24 日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学
EA ファーマ株式会社
エーザイ株式会社

炎症性腸疾患の治療に有用な新規抗炎症メカニズムを解明
～病変部位への白血球浸潤を抑制する低分子化合物～

研究成果のポイント

1. 炎症性腸疾患（IBD）^{注1）} 治療薬として開発中の低分子化合物 E6007 の類縁体が、細胞内タンパク質のカルレティキュリン（CRT）^{注2）} に結合し、白血球の接着分子インテグリン^{注3）} との相互作用を阻害することで、白血球全般の接着・浸潤を抑制する新規の作用メカニズムを解明しました。
2. 本類縁体を IBD モデルマウスに経口投与したところ、病変部位への白血球浸潤が抑制され、顕著な抗炎症効果を示しました。
3. 解明された抗炎症作用メカニズムは、新たな IBD 治療薬として提供を目指している E6007 の価値向上と開発の加速化につながることで期待されます。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センター（TARA）の深水昭吉教授らの研究グループ、およびエーザイ株式会社（以下 エーザイ）と、その消化器事業子会社であるEAファーマ株式会社（以下 EAファーマ）は、エーザイが創出し、現在、EAファーマが治験中の炎症性腸疾患（IBD）治療薬E6007の類縁体（ER-464195-01）と、筑波大学が開発したタンパク質間相互作用可視化マーカーを用い、本類縁体が、CRTとインテグリン $\alpha 4$ （ITGA4）の相互作用を遮断することにより、インテグリン活性化を阻害し、白血球全般の接着・浸潤を抑制するメカニズムを解明しました。

IBDは、腸管に原因不明の炎症を繰り返す難病の総称であり、潰瘍性大腸炎（UC）とクローン病（CD）に大別されます。本共同研究グループは、UCの大腸病変部位において、白血球の接着・浸潤に関与する「CRTとITGA4の相互作用」が増加すること、そして培養細胞を用いた検討から、このタンパク質間相互作用をER-464195-01が抑制することを見出しました。また、IBDモデルマウスへのER-464195-01の経口投与により、病変部位への白血球浸潤が抑制され、抗炎症作用が発揮されることを確認しました。加えて、IBDモデルマウスの大腸組織を用いたトランスクリプトーム解析^{注4）} から、「正常-炎症-改善」の過程にプログラミングされる遺伝情報を明らかにしました。

近年、IBD患者数が増加の一途を辿る中、新規作用メカニズムを有し、有効性と服薬コンプライアンスに優れる経口投与可能な治療薬が求められています。この点において本共同研究成果は、新たなIBD治療方法の提供につながることで期待されます。

本研究成果は、2018年5月17日付「Nature Communications」電子版にて公開されました。

- * 本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）が助成する産学共同実用化開発事業（NexTEP）・「低分子化合物とバイオマーカーを用いた炎症性腸疾患の治療」（研究代表者：深水昭吉、研究期間：平成26～32年度）によって実施されています。
(https://www.jst.go.jp/jitsuyoka/topics/saitaku_201403.html)

研究の背景

IBD は、大腸や小腸の粘膜に慢性的な炎症が起こる原因不明の疾患の総称であり、寛解と再燃を繰り返しながら長期間炎症が続くことで、大腸癌の原因にもなります（参考図1）。難病情報センター (<http://www.nanbyou.or.jp>) の平成 25 年度の調査では、若年者（20～30 代）が最も高発病率を示し、とりわけ、UC は 166,060 人、CD は 39,799 人と、難病の中でも患者数が多い疾患として報告されています。現在のところ、IBD の病変部位に種々の白血球の浸潤が認められていることに加え、接着分子である ITGA4 が強く発現していることから、その治療には、白血球除去療法や ITGA4 に対する抗体治療薬が使用されています。しかしながら、IBD 患者数は年々増加しており、服薬コンプライアンスと有効性に優れる低分子治療薬の開発が望まれています。

エーザイと EA ファーマはすでに、新たな IBD 治療薬として、インテグリンの活性化阻害作用を有する低分子化合物 E6007 を開発しており（参考文献 1）、本共同研究グループは、この E6007 の類縁体（ER-464195-01）を用い、筑波大学が開発した、タンパク質間の相互作用を可視化する技術（バイオマーカー）を活用して、抗炎症作用が発現するメカニズムの解明を試みました。

研究内容と成果

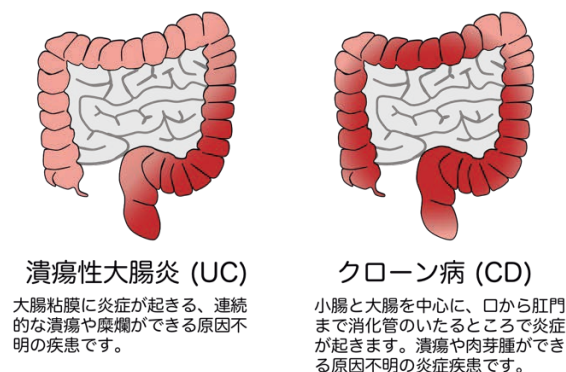
分子シャペロン^{注5)}であるCRTは、インテグリンサブユニットと結合して細胞接着を促進します（参考文献2）。本共同研究グループは、UC患者の大腸組織とタンパク質間相互作用を検出するバイオマーカーを用いて、CRTとITGA4の相互作用を調べた結果、正常部位に比べて病変部位ではこの相互作用が有意に上昇していることを見出しました。そこで、CRTとITGA4の相互作用を遮断することにより、白血球細胞の活性化を抑制できるという仮説のもと、化合物ライブラリー（エーザイ）を用いたスクリーニング解析を行いました。その結果、CRTに結合し、ITGA4との相互作用を阻害することで、白血球接着を抑制する低分子化合物ER-464195-01を同定しました（参考図2）。この化合物を予防的に経口投与したマウスでは、デキストラン硫酸ナトリウム（DSS）誘導性大腸炎に対して顕著な抗炎症効果を示すことに加え、RNAシーケンシング法による全転写物の網羅的解析から、炎症性サイトカインや炎症応答性シグナル因子の発現が有意に抑えられていることが明らかになりました。さらに、DSS誘導性大腸炎を起こしたマウスにER-464195-01を投与したところ、興味深いことに、粘膜細胞や粘膜バリアの障害^{注6)}や炎症性細胞の浸潤が大きく改善されました。本共同研究を通じて解明された抗炎症作用メカニズムは、IBD治療の新たな選択肢の提供につながると期待されます。

今後の展開

本共同研究により解明された抗炎症効果を有する低分子化合物 ER-464195-01 は、現在治験中の E6007 の類縁体であり、E6007 も同様の作用メカニズムを有すると考えられます。これにより、E6007 の価値向上と開発の加速化が期待されます。

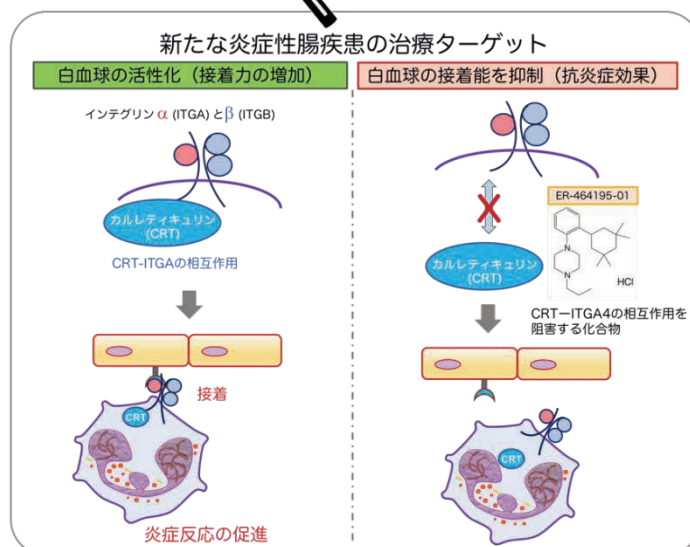
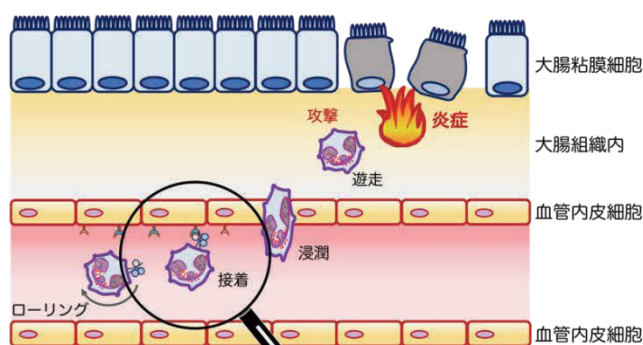
参考図

炎症性腸疾患 (IBD)



参考図1) 消化管に炎症、潰瘍を生じ、出血、下痢、体重減少、発熱などの症状をおこす疾患の総称で、狭義には潰瘍性大腸炎 (UC) とクローン病 (CD)を示します。

炎症が起こるしくみ：浸潤した白血球細胞が腸粘膜細胞を攻撃



参考図2) 本研究で開発した低分子化合物 (ER-464195-01) は、CRTに結合し、ITGAとの相互作用を阻害することで、炎症反応の開始段階である白血球の血管内皮細胞への接着を抑制します。

用語解説

- 注1) 炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease, IBD)
潰瘍性大腸炎 (UC) とクローン病 (CD)を指し、大腸粘膜に潰瘍やびらんが生じ、出血・下痢・体重減少・発熱などの症状を起こす原因不明の慢性炎症性疾患です。
- 注2) カルレティキュリン (Calreticulin, CRT)
小胞体に存在する、カルシウムイオン (Calcium ion、Ca²⁺) 結合性の分子シャペロンです。細胞内では、細胞接着やカルシウムイオンの恒常性、細胞間の情報伝達、遺伝子発現、糖タンパク質の合成など、多彩な生理機能を有するタンパク質です。
- 注3) インテグリン (Integrin)
接着分子 (タンパク質) であるインテグリンは、 α 鎖と β 鎖のヘテロダイマー (サブユニット) で構成され、18種類の α 鎖と8種類の β 鎖の組み合わせから、24種類が知られています。CRTは、インテグリン α 鎖サブユニットの細胞内側のアミノ酸配列に結合 (相互作用) します。
- 注4) トランスクリプトーム解析 (Transcriptome analysis)
トランスクリプトームは、細胞中に存在する全 mRNA (メッセンジャーRNA) の総体を指します。近年の次世代シーケンサー技術の発展により、遺伝子の配列や発現の解析が加速化されるようになりました。中でも、RNA シーケンシング法の進展によって、大量の RNA 配列情報の迅速な解析が可能になりました。
- 注5) 分子シャペロン (Molecular chaperon)
細胞内のタンパク質は、立体構造に折りたたまれています (フォールディング) 。分子シャペロンは、種々のタンパク質が機能を獲得できるようにフォールディングを調節するタンパク質です。
- 注6) 粘膜バリア障害 (Mucosal barrier injury)
腸管粘膜バリア (壁) は、腸管上皮によって形成されており、病原体や有害物質、口から取り込まれたウイルスなどが、腸壁から体内に吸収されないようにブロックする機能を持っています。腸管粘膜に強い炎症が生じると、粘膜細胞が損傷し、腸管粘膜バリアの障害が起こります。

参考文献

- 1) エーザイ株式会社・国立大学法人筑波大学 2014年5月7日付プレスリリース
(<https://www.eisai.co.jp/news/news201420.html>)
- 2) Coppolino MG, *et al.* Nature 386, 843-847, 1997

掲載論文

- 【題名】 Calreticulin and integrin alpha dissociation induces anti-inflammatory programming in animal models of inflammatory bowel disease.
(炎症性腸疾患モデル動物における、カルレティキュリン-インテグリン相互作用の抑制は、抗炎症プログラミングを誘導する)

【著者名】 Masayoshi Ohkuro[†], Jun-Dal Kim[†], Yoshikazu Kuboi, Yuki Hayashi, Hayase Mizukami, Hiroko Kobayashi-Kuramochi, Kenzo Muramoto, Manabu Shirato, Fumiko Michikawa-Tanaka, Jun Moriya, Teruya Kozaki, Kazuma Takase, Kenichi Chiba, Kishan Lal Agarwala, Takayuki Kimura, Makoto Kotake, Tetsuya Kawahara, Naoki Yoneda, Shinsuke Hirota, Hiroshi Azuma, Nobuko Ozasa-Komura, Yoshiaki Ohashi, Masafumi Muratani, Keiji Kimura, Ieharu Hishinuma and Akiyoshi Fukamizu*

[†] These two authors contributed equally to this work

* Corresponding author

【掲載誌】 Nature Communications 9,1982 (2018), doi:10.1038/s41467-018-04420-4

問合わせ先

筑波大学広報室

Email: kohositu@un.tsukuba.ac.jp

Tel: 029-853-2039

EA ファーマ株式会社 経営企画部

Tel: 03-6280-9802

エーザイ株式会社 PR 部

Tel: 03-3817-5120

平成 30 年 8 月 10 日

報道関係者各位

国立大学法人 筑波大学

大動脈瘤形成に関与するメカノトランスダクション機構を解明
～新しい治療標的分子の特定～

研究成果のポイント

1. 血管平滑筋細胞において、マトリセルラータンパク質^{*1}のトロンボスポンジン 1 (Thbs1) がメカニカルストレスによって発現誘導されるシグナル伝達経路 (メカノトランスダクション^{*2}機構) の重要因子であることを明らかにしました。
2. Thbs1 がマウス上行大動脈瘤や胸部大動脈瘤患者の血管壁で発現亢進していることを示しました。
3. Thbs1 の抑制が大動脈瘤発症の抑止に効果的であることを明らかにしました。
4. 大動脈瘤の治療標的分子として、Thbs1 を介したメカノトランスダクション機構に焦点をあてた新たな治療法の開発が期待されます。

筑波大学生存ダイナミクス研究センター(TARA)の柳沢裕美教授、山城義人助教、医学医療系心臓血管外科学・平松祐司教授、関西医科大学薬理学講座・中邨智之教授らの研究グループは、マトリセルラータンパク質トロンボスポンジン 1 (Thbs1)の抑制が大動脈瘤発症の抑止に効果的であることを明らかにしました。

研究グループはまず、上行大動脈瘤マウスモデルを用いて、大動脈瘤発症の初期に Thbs1 が発現亢進していることを見出しました。血管平滑筋細胞において、周期的な伸展刺激やアンギオテンシン II によって Thbs1 の発現が誘導されること、またこの発現誘導はメカニカルストレス応答転写因子 Early growth response 1(Egr1)を介していることを明らかにしました。さらに、Thbs1 の抑制が大動脈瘤発症の抑止に効果的であること、Thbs1 が胸部大動脈瘤患者の血管壁においても発現上昇していることを明らかにしました。この発見は、血管壁のメカニカルストレスに応答するシグナル伝達経路を特定した点で画期的であり、大動脈瘤発症の新たな分子メカニズムと、Thbs1 を標的とした新しい治療法開発へと繋がる知見を提供するものです。

本研究の成果は、2018 年 8 月 9 日付 *Circulation Research* 誌 Online 版で先行公開されました。

* 本研究は、筑波大学、関西医科大学、米国ワシントン大学、カナダマクギル大学との国際共同研究によって行われたもので、柳沢裕美教授への科研費助成（課題番号 17H04289）、山城義人助教への科研費助成（課題番号 15K20898）、などの支援によって実施されました。

研究の背景

大動脈瘤とは？

大動脈瘤は血管壁が異常に拡張し、破裂、死に至る疾患です。一般に兆候（症状）がなく、瘤は画像診断などで偶然に発見されるため、発見が遅れることが治療を困難としています。また、現在の大動脈瘤治療は人工血管置換やステントグラフト挿入^{*3}といった外科手術を基本としているため、体力的な負担や、いつ破裂するかわからない瘤を抱えて生活する心的負担が問題となっています（右図）。

大動脈瘤に対するお薬は？

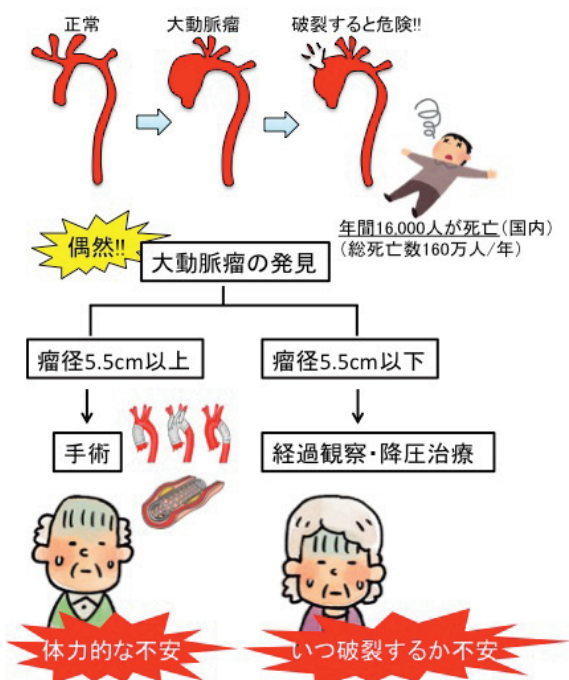
現在、大動脈瘤の薬物治療には有効な手立てがない状況です。そのため、大動脈瘤の分子メカニズムを明らかにし、治療標的になる分子を特定する事が最重要課題であると考えられています。

大動脈瘤発症を誘導する因子とは？

血管壁は絶えずメカニカルストレス（血圧や血流による血行力学的応力）に晒されており、その制御機構の破綻が大動脈瘤などの血管病態を引き起こすのではないかと提唱され始めています。細胞外マトリクスタンパク質^{*1}であるフィブリン4は、大動脈壁に多く発現しており、弾性線維^{*4}形成に深く関与しています。本研究グループはこれまでに、マウスの血管平滑筋細胞におけるフィブリン4の欠損が、上行大動脈瘤を引き起こすことを報告しました[1]。また、病変部では動脈壁の肥厚、弾性線維の崩壊、血管平滑筋細胞の増殖、レニン-アンギオテンシン系のシグナルが局所的に増加していることを見出しました[2]。さらに病変部では、弾性線維と血管平滑筋細胞の結合が破綻し、メカニカルストレスの異常と細胞骨格のリモデリングが大動脈瘤の形成に重要な働きをしていることを報告しましたが[3]、大動脈瘤初期病変を誘導する分子機序の詳細は未だ明らかにされていませんでした。

研究内容と成果

本研究グループは、マトリセルラータンパク質Thbs1の大動脈瘤形成への関与を明らかにしました。はじめに、生後30日目の大動脈瘤血管壁をThbs1抗体で免疫染色し、その局在を精査しました。正常（野生型）の大動脈ではThbs1の発現はほとんど認められないのに対し、大動脈瘤では血管内皮細胞と血管平滑筋細胞にThbs1が高発現していました（参考図；左）。また、血管平滑筋細胞に対する周期的伸展刺激やアンギオテンシンIIが、メカニカルスト

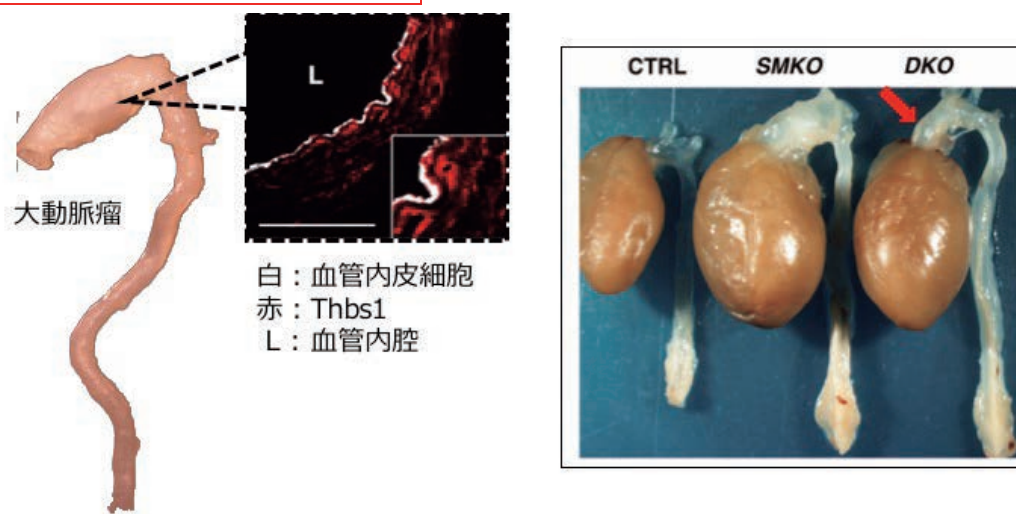


レス応答転写因子Egr1を介してThbs1の発現を誘導していること、フィブリノゲン4の欠損によってメカニカルストレスに対する反応が鋭敏になることを見出しました。さらに、Thbs1を遺伝的に欠損させると、病変部で見られた弾性線維と血管平滑筋細胞の結合障害が改善し、細胞骨格調整因子コフィリンの不活性化を伴って大動脈瘤の形成が抑止されることを見出しました（参考図；右DKO）。マウスを用いた解析と同じように、胸部大動脈瘤患者の血管壁ではThbs1が高発現していることから、Thbs1の抑制が大動脈瘤の治療に有効である可能性が示されました。本研究の成果は大動脈瘤の新しい治療標的分子を世界に先駆けて特定したものであり、新しい治療法の開発や創薬ターゲットとなることが今後期待されます。

今後の展開

臨床的応用にあたり、大動脈瘤形成を促進する Thbs1 に対する阻害剤の開発や、Thbs1 の新たな受容体探索、血管弾性線維形成との関わり、血管平滑筋細胞と内皮細胞の相互作用にどのように Thbs1 が関与するのかなどを明らかにし、血管壁を維持する機構の理解を深めていくことが重要となります。

参考図（マウスを用いた解析）



図：大動脈瘤血管壁でのThbs1の発現（左）とThbs1抑制による大動脈瘤発症の抑止（右；赤矢印）

用語解説

*1 マトリセルラータンパク質（細胞外マトリクスタンパク質）

細胞の周りや細胞と細胞の間に存在する細胞外マトリクスの一種で、それ自身はマトリクスの構造を担っていないタンパク質。細胞とマトリクス間の相互作用を仲介し、細胞間シグナル伝達やマトリクス形成調節などを担う。

*2 メカノトランスダクション

細胞は力刺激を感知し、細胞内シグナルへと変換する事（メカノトランスダクション）で細胞の増殖、分化、運動を制御する。

＊3 ステントグラフト挿入

人工血管にステントといわれる自己拡張型の金属を取り付けたものを大腿動脈から挿入し大動脈瘤の内側で固定させる手技。

＊4 弾性線維

動物の結合組織に含まれ、弾力に富み、肺や靱帯、動脈の血管壁において組織の伸縮に関与する。

参考文献

- [1] J. Huang, EC. Davis, SL. Chapman, LY. M. Budatha, M. Marmorstein, RA. Word and H. Yanagisawa: Fibulin-4 deficiency results in ascending aortic aneurysms: a potential link between abnormal smooth muscle cell phenotype and aneurysm progression. *Circ. Res.* 106(3):583-592 (2010).
- [2] J. Huang, Y. Yamashiro, CL. Papke, Y. Ikeda, Y. Lin, M. Patel, T. Inagami, VP. Le, JE. Wagenseil and H. Yanagisawa: Angiotensin converting enzyme-induced activation of local angiotensin signaling is required for ascending aortic aneurysms in fibulin-4 deficient mice. *Sci. Transl. Med.* 5, 183ra58 (2013).
- [3] Y. Yamashiro, CL. Papke, J. Kim, LJ. Ringuette, QJ. Zhang, ZP. Liu, H. Mirzaei, JE. Wagenseil, EC. Davis, and H. Yanagisawa: Abnormal mechanosensing and cofilin activation promotes the progression of ascending aortic aneurysms in mice. *Sci. Signal.* 8.399:ra105, (2015).

掲載論文

【題 名】 Role of thrombospondin-1 in mechanotransduction and development of thoracic aortic aneurysm in mouse and humans.

（マウスとヒトのトロンボスポンジン1のメカニカルストレス応答と上行大動脈瘤発症における役割）

【著 者】 Yoshito Yamashiro, Ph.D.¹, Bui Quoc Thang, M.D.^{2*}, Seung Jae Shin^{1,3*}, Caroline Antunes Lino^{4*}, Tomoyuki Nakamura, M.D., Ph.D.⁵, Jungsil Kim, Ph.D.⁶, Kaori Sugiyama^{1,7}, Chiho Tokunaga, M.D., Ph.D.², Hiroaki Sakamoto, M.D., Ph.D.², Motoo Osaka, M.D., Ph.D.², Elaine C. Davis, Ph.D.⁸, Jessica E. Wagenseil, D.Sc.⁶, Yuji Hiramatsu, M.D., Ph.D.² and Hiromi Yanagisawa, M.D., Ph.D.^{1,9}

†

¹Life Science Center for Survival Dynamics, Tsukuba Advanced Research Alliance, University of Tsukuba, Ibaraki 305-8577, Japan.

²Department of Cardiovascular Surgery, University of Tsukuba, Ibaraki 305-8577, Japan.

³Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, 305-8577, Japan.

⁴Department of Anatomy, University of Sao Paulo, Institute of Biomedical Sciences, Sao Paulo, SP 05508-900, Brazil.

⁵Department of Pharmacology, Kansai Medical University, Osaka 573-1010, Japan.

⁶Department of Mechanical Engineering and Materials Science, Washington University, St. Louis, MO 63130, USA.

⁷Ph.D. Program in Human Biology, School of Integrative and Global Majors, University of Tsukuba, Ibaraki, 305-8577, Japan

⁸Department of Anatomy and Cell Biology, McGill University, Montreal, Quebec H3A0C7, Canada.

⁹Faculty of Medicine, University of Tsukuba, Ibaraki 305-8577, Japan

【掲載誌】 *Circulation Research* (DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313105)

問合わせ先

柳沢 裕美 (やなぎさわ ひろみ)

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター (TARA) 教授

Tel: 029-853-7318 (内線 7318) Email: hkyanagisawa@tara.tsukuba.ac.jp

<http://saggymouse.tara.tsukuba.ac.jp/>

若齢期の拡張型心筋症の要因を解明
～アルギニンメチル化酵素 PRMT1 欠損が心臓での遺伝子転写に異常をもたらす～

研究成果のポイント

5. 心筋細胞におけるアルギニンメチル化^{注1)} 酵素 PRMT1 の欠損が、若齢期の拡張型心筋症の原因となることが明らかになりました。
6. PRMT1 を欠損した心臓では遺伝子の「選択的スプライシング^{注2)}」に異常があることを見出し、心臓における新規の遺伝子転写産物の変化を発見しました。
7. 本研究で開発した PRMT1 遺伝子欠損マウスは、拡張型心筋症^{注3)} の発症メカニズムを理解するための有用なツールとなることが期待されます。

国立大学法人筑波大学 生存ダイナミクス研究センター(TARA)の深水昭吉教授らの研究グループは、心筋細胞におけるアルギニンメチル化酵素PRMT1の欠損が、若齢期の拡張型心筋症の要因となることを明らかにしました。

アルギニンメチル化は多くのタンパク質に見られる翻訳後修飾のひとつであり、遺伝子発現など、転写をはじめとする広範な細胞反応に関与しています。アルギニンメチル化を担う酵素の一つであるPRMT1は全身の組織に存在していますが、心臓における役割は不明でした。

本研究グループは、心筋細胞においてPRMT1遺伝子を欠損したマウスを作製して解析したところ、このマウスが若齢期に心収縮力の著しい低下や、心拡大といった拡張型心筋症に似た表現型を示すことを見出しました。また、遺伝子発現パターンの網羅的な解析の結果、このマウスの心臓では遺伝子の選択的スプライシングに異常があることをつきとめ、これまで心臓では知られていなかった選択的スプライシングによる転写産物の変化を発見しました。

拡張型心筋症は、乳幼児など若年者ほど予後は悪い疾患として知られており、1歳未満での発症が多いといわれています (<http://www.jhf.or.jp/child/sinkinsyo.html>)。近年、選択的スプライシングの異常がヒトの拡張型心筋症に深く関与していることが報告されました。従って、本研究で開発したモデルマウスは、拡張型心筋症の発症メカニズムを探るための有用なツールになると期待されます。

本研究の成果は、2018年10月2日付「*iScience*」でオンライン先行公開されました。

＊ 本研究は、日本学術振興会の科学研究費補助金（科研費）：基盤研究（A）「アルギニンメチル化酵素と栄養補給路の機能的ネットワークの解明」（25252062：深水昭吉）、新学術領域研究（転写代謝システム）「転写環境の構築とアミノ酸代謝のクロストーク」（23116004：深水昭吉）、基盤研究（C）「一酵素・二活性（PRMT8）の生物学的意義の解明」（18K05429：金 俊達）-上原記念生命科学財団助成金（深水昭吉）によって実施されました。

研究の背景

タンパク質のアルギニンメチル化は翻訳後修飾の一つであり、生体内のタンパク質の機能を変換させ、広範な生命現象に関与しています。本研究グループは、PRMT1がこの反応を担う主要な酵素として、脳では神経細胞の分化に、血管では内皮細胞の機能を制御して血管形成に作用することを明らかにしてきました。

一方、心臓は、全身に血液を送り出すポンプとしての重要な役割を担い、その収縮力が著しく低下すると心不全と呼ばれる状態になり、重篤な場合には死に至る危険性があります。これまでに、ヒトの心不全患者や、心不全モデル動物の心臓において、タンパク質の翻訳後修飾の一つであるアルギニンメチル化を触媒する酵素・PRMT1の発現量が変化することが報告されていました。しかし、アルギニンメチル化を担う主要な酵素であるPRMT1の心臓における機能については、明らかになっていませんでした。

研究内容と成果

本研究では、心筋細胞特異的にPRMT1遺伝子を欠損したマウス (PRMT1-cKOマウス) を作製し、心機能の解析を行いました。このマウスは正常に生まれてきますが、生後60日以内 (若齢期) に死亡することが解りました。PRMT1-cKOマウスの心臓の機能と形態について調べたところ、成長に伴って心収縮力が著しく低下し、心室の内腔が拡大するなど (図1)、拡張型心筋症と呼ばれる心疾患によく似た特徴を示すことが判明しました。また、この心臓における遺伝子発現パターンを網羅的に解析したところ、拡張型心筋症に関連する遺伝子の転写が変動していることが明らかになるとともに、多くの遺伝子の選択的スプライシングに異常がありました (図2)。さらに詳細な遺伝子発現パターンを解析した結果、これまで心臓において報告されていなかった新しい選択的スプライシングの変化を見出しました。

以上の結果は、アルギニンメチル化酵素PRMT1は心臓機能の維持に必須であることを示しており、PRMT1の欠損が拡張型心筋症の発症に寄与することを示唆しています。

今後の展開

近年、ヒトにおいても拡張型心筋症に選択的スプライシングの異常が関与することが報告されていますが、心臓における選択的スプライシングの制御機構の解明は発展途上です。本研究により開発したPRMT1-cKOは、この仕組みを解き明かすための有用なツールとなると考えられ、PRMT1がどのように選択的スプライシングを制御するのか、また、選択的スプライシングの異常が心臓にどのような影響を与えるのかを調べることで、拡張型心筋症の発症メカニズムの理解につながると考えられます。

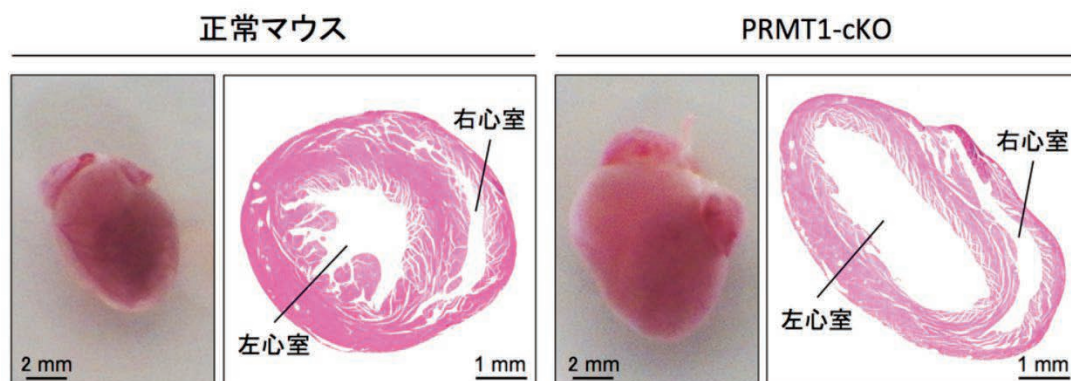


図1. PRMT1-cKO マウスの心臓の形態(42日齢)

各マウス左側の写真は心臓の外観を示しており、PRMT1-cKO マウスでは全体的に心臓が大きくなっている。各マウス右側の写真は心臓の断面図であり、ピンクに染まっている部位が主に心筋細胞で構成される心臓の壁(心室壁)である。PRMT1-cKO マウスでは左心室の内腔が顕著に広がっている。

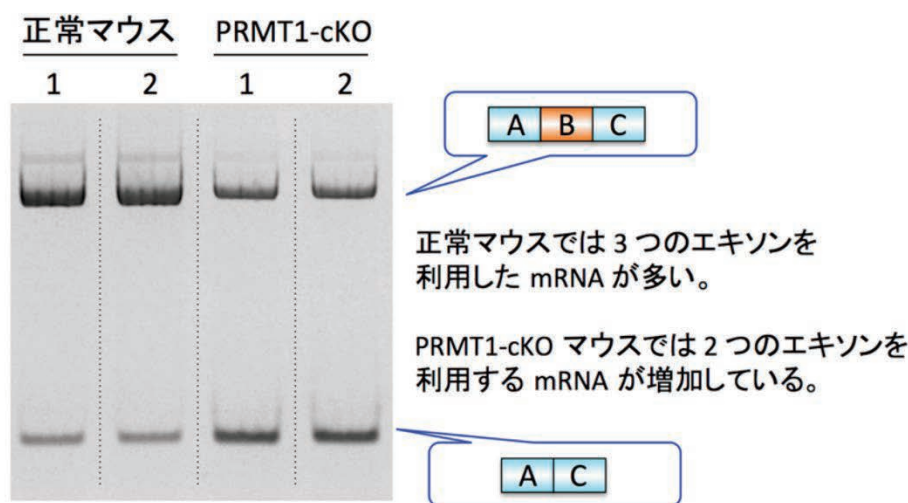


図2. 心臓における選択的スプライシング異常の例

各マウス心臓より抽出した RNA をもとに、PCR (Polymerase Chain Reaction) という技術を用い、遺伝子の mRNA の一部を増幅し、電気泳動を行って可視化した(各群2匹ずつ実施した。1, 2 はマウスの個体番号)。PCR の増幅産物は黒いバンドとして現れる。上に出ているバンドは3つのエキソンを利用した mRNA 由来、下に出ているバンドは2つのエキソンを利用した mRNA 由来の産物である。正常マウスでは上のバンドが多いのに対し、PRMT1-cKO マウスでは下のバンドが多く検出されており、この遺伝子の選択的スプライシングに異常があることがわかる。

用語解説

注7) アルギニンメチル化

DNA にコードされている遺伝情報は、メッセンジャーRNA (mRNA) へと転写され、その後タンパク質へと翻訳される。翻訳されたタンパク質はその後、様々な修飾を受け、性質や機能が変化することが知られており（翻訳後修飾）、その修飾の一つがアルギニンメチル化である。この反応はタンパク質アルギニンメチル化酵素（PRMT）によって触媒される。

注8) 選択的スプライシング

DNA にコードされている遺伝情報には、タンパク質を合成するのに必要な領域（エキソン）と、不要な領域（イントロン）がある。mRNA の生成過程において、イントロンは除去され、エキソンのみが繋がり成熟した mRNA が完成する。その際に、エキソンの利用にバリエーションが存在する場合があります、これを選択的スプライシングと呼ぶ。この機構により、一つの遺伝子から複数種類のタンパク質を生み出すことが可能となる。

注9) 拡張型心筋症

心臓の筋肉の収縮機能が低下し、心室内腔が拡張してしまう心疾患であり、多くの場合が進行性である。拡張型心筋症は慢性心不全の症状を呈し、予後不良の疾患である。遺伝的要因と後天的要因の両者が原因として考えられている。

参考文献

- 1) Blanc RS & Richard S, Mol. Cell 65: 8-24 (2017)
- 2) Refaat MM, et al., Heart Rhythm. 9: 390-396 (2012)
- 3) Hashimoto M, et al., J. Biol. Chem. 291: 2237-2245 (2016)
- 4) Ishimaru T, et al. J. Biochem. 161: 255-258 (2017)

掲載論文

【題名】 PRMT1 deficiency in mouse juvenile heart induces dilated cardiomyopathy and reveals cryptic alternative splicing products

（PRMT1 欠損は、若齢マウス心臓における拡張型心筋症を引き起こし、新しい選択的スプライシング産物を顕在化する）

【著者名】 Kazuya Murata, Weizhe Lu, Misuzu Hashimoto, Natsumi Ono, Masafumi Muratani, Kana Nishikata, Jun-Dal Kim, Shizufumi Ebihara, Junji Ishida, and Akiyoshi Fukamizu

【掲載誌】 *iScience* 8, 200-213 (2018) DOI: 10.1016/j.isci.2018.09.023

問い合わせ先

深水 昭吉（ふかみず あきよし）

筑波大学生存ダイナミクス研究センター（TARA） 教授

〒305-8577 茨城県つくば市天王台 1-1-1

Email: akif@tara.tsukuba.ac.jp

Tel: 029-853-6070