

令和元年5月27日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09496

研究課題名(和文) 心臓線維化における老化制御因子WRNタンパクの役割

研究課題名(英文) Role of aging regulatory protein WRN in cardiac fibrosis

研究代表者

坂東 泰子(暮石泰子)(Bando, Yasuko K.)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60452190

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：老化制御分子WRN蛋白はテロメア制御とDNA修復を司ることにより染色体を安定的に維持するよう働くが、その欠損は老化・癌化・糖代謝異常を促進することが知られている。本研究では、WRN遺伝子変異マウスモデルを用いて、心臓老化の機序の解明を検証してきた。本研究の成果として、WRN活性抑制マウス(WRN-KD)が、上述に一致する病的心筋肥大および心臓線維化に代表される心臓拡張機能障害を呈すること、そのメカニズムとして、オートファジー異常があるという結果を得た。この結果として、心臓アポトーシスおよび酸化ストレスの亢進、線維化の亢進があったが、当初仮設していたテネイシンは無関係であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化社会に突入し、高齢者心不全患者数の増加とその予防は喫緊の課題である。本研究の成果は、高齢者に最も多いと言われる拡張不全型心不全の予防介入として、オートファジー活性調整が有用である可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：[Background/Introduction] Aging is known to be one of the primary causes of heart failure. Werner syndrome is one of the aging disorder that caused by dysfunction of DNA helicase-regulatory protein (WRN). [Results] WRN-K577M exhibited diffuse left-ventricular (LV) hypertrophy, enhanced fibrosis, and diastolic LV dysfunction with preserved systolic ejection fraction. DNA microarray analysis of WRN-K577M heart revealed that the 253 genes were upregulated including hypertrophy, fibrosis, inflammation, and oxidative stress. Notably, p62 and LC3-II/I were increased in myocardium of WRN-K577M. Blockade of the lysosomal fusion into autophagosome by systemic treatment with chloroquine reduced LC3-II/I ratio. [Conclusion(s)] In WRN-mutant progeria model, off-rate disorder of cardiac autophagy is, at least in part, the cause of increase in oxidative stress and inflammation in heart leading to HFpEF.

研究分野：循環器内科

キーワード：ウェルナー症候群 心臓拡張不全 心不全 オートファジー 酸化ストレス

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢者心不全の特徴の一つは心臓拡張機能障害であり、その心臓における病理学的特徴には、①心臓毛細血管不全②病的な心筋肥大③心臓線維化があり、これらは心臓老化の特徴と言える。テロメア短縮や DNA 障害が細胞老化の必要十分条件であることは周知であるが、心臓老化にも適用できるのか、その結果生じるメカニズムについては不明な点が多い。老化制御分子 WRN 蛋白はテロメア制御と DNA 修復を司ることにより染色体を安定的に維持するよう働くが、その欠損は老化・癌化・糖代謝異常を促進することが知られているが心臓老化への影響については不明であった。我々は WRN が心臓老化の原因となりうると仮説した。

2. 研究の目的

本研究は心臓老化の機序の解明を目指し、2つの仮説：従来の DNA/テロメア非依存性 (ストレス反応性) 及び DNA/テロメア依存性機序が心臓組織リモデリングをきたすことを立案しこれを検証する。

3. 研究の方法

本研究では、WRN 活性抑制マウス (WRN-KD) モデル (図 1) を用いて、心臓老化の機序の解明を検証した。

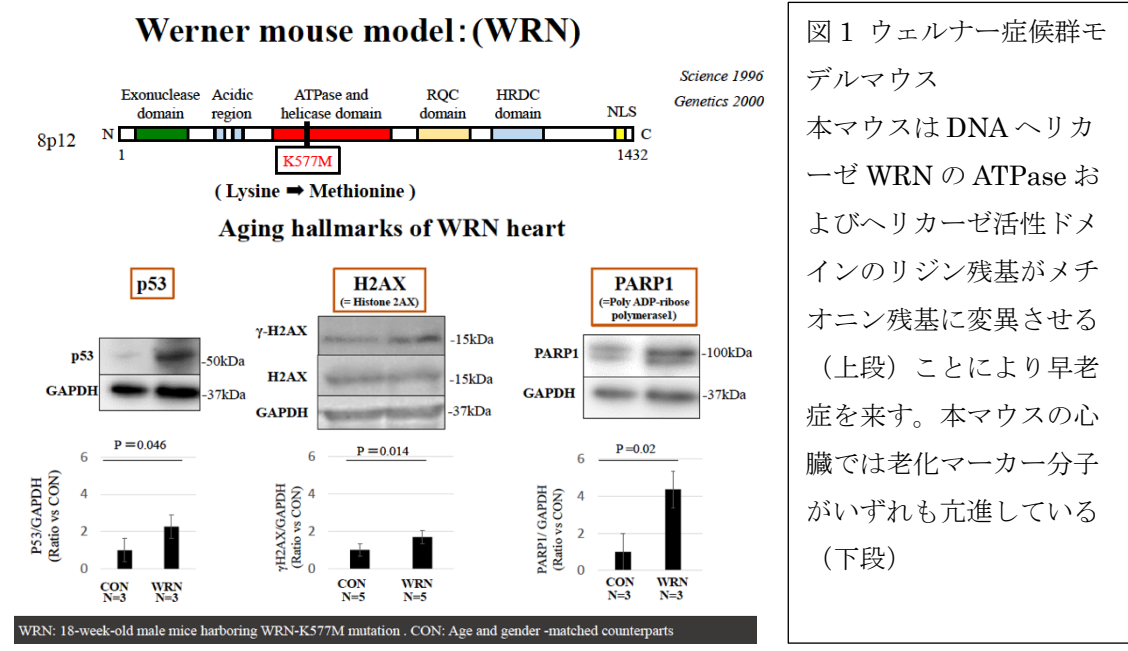
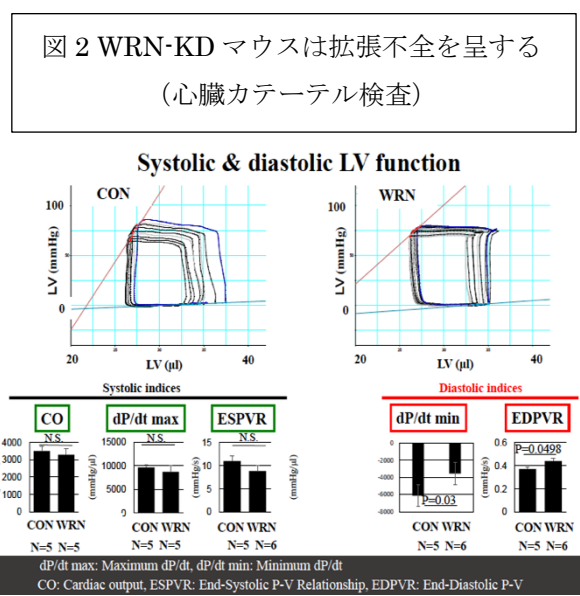


図1 ウェルナー症候群モデルマウス
本マウスは DNA ヘリカーゼ WRN の ATPase およびヘリカーゼ活性ドメインのリジン残基がメチオニン残基に変異させる (上段) ことにより早老症を来す。本マウスの心臓では老化マーカー分子がいずれも亢進している (下段)

4. 研究成果

WRN-KD は、通常マウスに比して1年早く老化の表現型が発症し、その心臓は、20週令までは心臓拡張機能障害を呈する (図2) が、84週令においては、心臓は著明に拡大し、心収縮能は著明に低下していることを見出した。

WRN-KD 心臓の病理組織解析の結果、線維化の亢進と心筋肥大 (図3) を認めたが、当初仮説していた炎症・線維化制御蛋白であるテネイシンは無関係であることが明らかと



なった。さらに、DNA マイクロアレイにおける解析の結果、炎症および線維化遺伝子の亢進を認めた (図 4)。総数 253 遺伝子が、週令および性別の一致した C57BL6 マウス心臓と比して増加していることが明らかとなり、そのうち 16 遺伝子が 4 倍以上の高い発現増加を認めた。4 倍以上の高い発現増加を認めたのは以下の分子群である：心筋肥大関連分子 (Myh7, K1kb11), 心臓線維化分子 (Fgf21, CTGF), 組織炎症関連分子 (Ap1s3, Pla2g2e, Has1, MMP9), 酸化ストレス制御分子 (catalase)。

さらに興味深いことに、WRN-KD ではオートファジー活性異常が生じており (図 5)、この原因として、DNA 傷害に起因するオートファゴソーム異常 (図 6) が関わることを明らかにし学会報告した。

図 3 WRN-KD 心臓線維化と心筋肥大

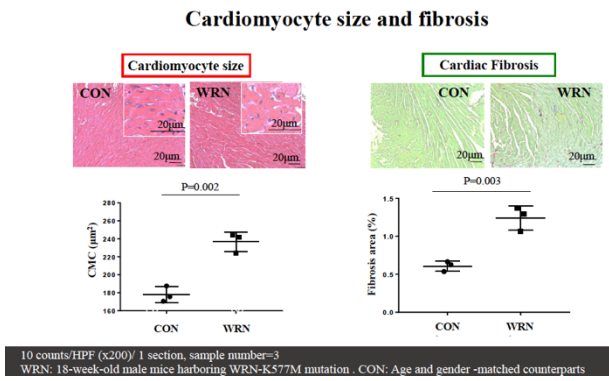


図 4 WRN-KD 心臓 DNA マイクロアレイ

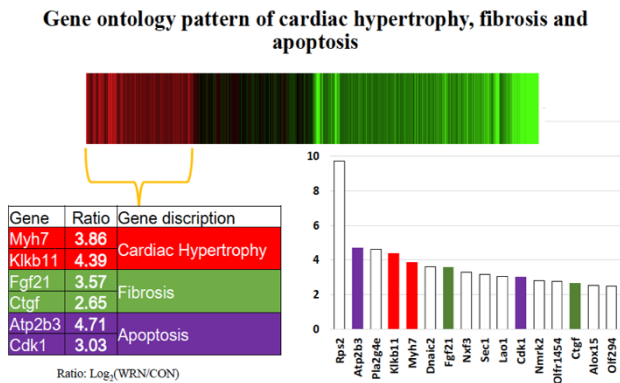


図 5 WRN-KD 心臓オートファジー異常

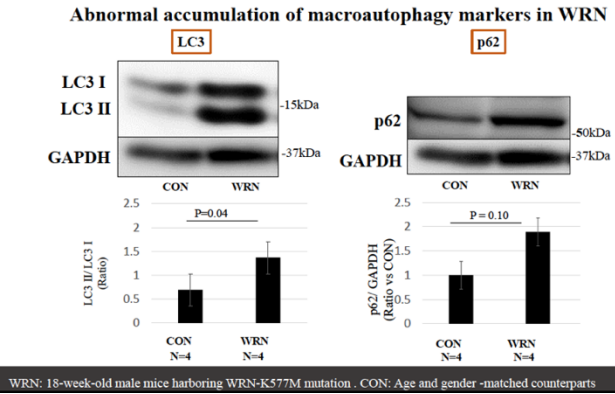
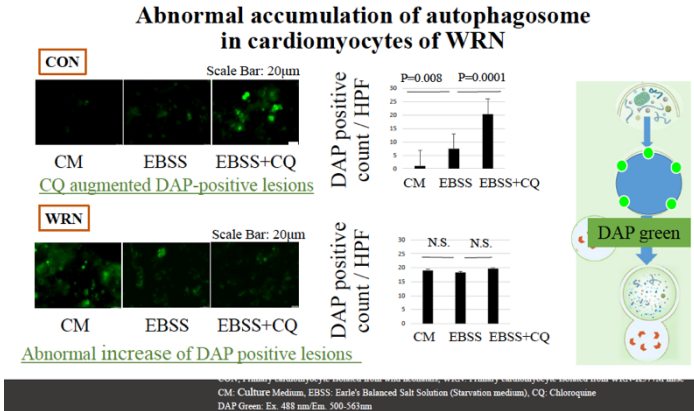


図 6 WRN-KD 心臓オートファゴソーム異常



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 1 件）

1) Kamihara T, Bando YK, Nishimura K, Murohara T

Werner syndrome gene mutation is responsible for cardiac aging with transition from diastolic to systolic LV dysfunction. (査読有) EUROPEAN HEART JOURNAL 39 巻 2018 年 1398 頁

〔学会発表〕（計 3 件）

1) Kamihara T, Bando YK, Nishimura K, Murohara T

Werner syndrome gene mutation is responsible for cardiac aging with transition from diastolic to systolic LV dysfunction. International Meeting on RECQ helicases and related diseases 2018（国際学会）2018 年

2) Kamihara T, Bando YK, Nishimura K, Murohara T

Werner syndrome gene mutation is responsible for cardiac aging with transition from diastolic to systolic LV dysfunction. Congress of the European-Society-of-Cardiology (ESC) 2018（国際学会）2018 年

3) Kamihara T, Bando YK, Nishimura K, Murohara T

Werner gene is responsible for cardiac aging with disability of autophagy 第 83 回日本循環器学会学術総会 2019 年

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：吉田 恭子（今中 恭子）

ローマ字氏名：YOSHIDA, Kyoko I.

所属研究機関名：三重大学

部局名：医学系研究科

職名：准教授

研究者番号（8 桁）：00242967

研究分担者氏名：室原 豊明

ローマ字氏名：MUROHARA, Toyoaki

所属研究機関名：名古屋大学

部局名：医学系研究科

職名：教授

研究者番号（8 桁）：90299503

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：該当なし

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。