

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：23803

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15995

研究課題名(和文)アルギニンメチル化酵素PRMT5の心臓における機能解析

研究課題名(英文)The function of PRMT5 in heart

研究代表者

宮崎 雄輔 (Yusuke, Miyazaki)

静岡県立大学・薬学部・客員共同研究員

研究者番号：40803466

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はアルギニンメチル化酵素PRMT5の心臓での機能について検討を行った。心筋特異的PRMT5KOマウスを作成したところ、ホモPRMT5KOマウスは生後10週目までに全て死亡した。生後4週間後での心臓超音波検査の結果、ホモPRMT5ノックマウスでは左室内径の拡大及び左室収縮能の低下が認められた。心重量体重比に差はみられなかったが、個々の心筋細胞径及び血管周囲の線維化の増加、ANF、BNPやCol1a1, Col3a1のmRNA量の増加ならびにSERCA2a、PGC1のmRNA量の減少がみられた。以上の結果より、心筋特異的PRMT5KOマウスは拡張型心筋症様を呈していることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心臓の機能は多種多様な分子によって制御されており、重要な分子機能の欠損は心機能不全さらには死に至る。肥大型心筋症や拡張型心筋症といった特発性心筋症は、一部の遺伝子の異常が病態発生に寄与している。PRMT5欠損は心拡張および左室機能低下がみられたことから、心筋症様の症状を呈していることが示唆された。PRMT5遺伝子異常が心筋症の要因となる可能性がある。また、PRMT5は癌関連遺伝子として知られており、その阻害剤は固形癌やリンパ腫の治療薬として臨床試験が進んでいる。本成果はPRMT5阻害による癌の治療は心臓に対する副作用の可能性を暗に示している。今後、更なる解析が求められる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the function of the arginine methyltransferase PRMT5 in the heart.

Cardiac-specific PRMT5-KO mice were generated using the loxP system. All homozygous cardiac PRMT5-KO mice died by 10 weeks of age. Echocardiographic analysis at 4 weeks of age revealed the dilation of enlarged left ventricular endo-diastole diameter and reduced left ventricular systolic function in homozygous cardiac PRMT5-KO mice compared to control mice. There was no difference in heart weight-to-weight ratio in both mice, but there was an increase in myocardial cell diameter and perivascular fibrosis, an increase in ANF, BNP, Col1a1, and Col3a1 mRNA levels, and a decrease in SERCA2a and PGC1 mRNA levels. These results indicate that cardiac-specific PRMT5-KO mice exhibit dilated cardiomyopathy.

研究分野：循環器内科

キーワード：PRMT5 心臓 心不全 拡張型心筋症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心不全はあらゆる心疾患の最終像であり予後が非常に悪く、現在に至っても十分な治療法が開発されていない。我々の研究室ではこれまでにヒストンアセチル化酵素 p300 と心臓特異的転写因子 GATA4 からなる p300/GATA4 経路が心不全発症に関与し、治療標的となることを見出した。我々は p300/GATA4 経路の詳細な制御機構を明らかにするため GATA4 複合体を網羅的に解析し、新規 GATA4 結合タンパク質としてアルギニンメチル化酵素 PRMT5 とその活性制御因子 MEP50 を同定した。

2. 研究の目的

PRMT5 による心臓での機能や心不全発症との関連は不明であった。そこで、本研究はアルギニンメチル化酵素 PRMT5 による心不全発症の分子機構解明と新規心不全治療法の開発を目的とする。そのため、Cre-loxP システムを用いて心臓特異的 PRMT5 ノックアウト(cPRMT5-KO) マウスを作成、機能解析を行った。

3. 研究の方法

心筋細胞特異的 KO マウスを作成するため、 α MHC-cre マウスと PRMT5^{flx/flx} マウスを交配した。当マウスを通常環境にて飼育し観察した。さらに心臓超音波検査および組織学的検査(HE 染色、マッソントリクローム染色)を行った。また mRNA 解析により、心不全発症に関する遺伝子の発現、電子顕微鏡観察により心筋ミトコンドリアの解析を行った。

4. 研究成果

α MHC-cre/PRMT5^{flx/wt} マウスと PRMT5^{flx/flx} マウスを交配し、ホモ型及びヘテロ型の cPRMT5-KO マウスを作出した。その結果、両マウスの生存率および性差は認められず、メンデルの法則に従って産まれてきた。これらマウスを通常環境にて飼育したところ、ホモ型 cPRMT5-KO マウスは生後 6-10 週間で全て死亡した(Fig.1)。ヘテロ型 cPRMT5-KO マウスにおいても生

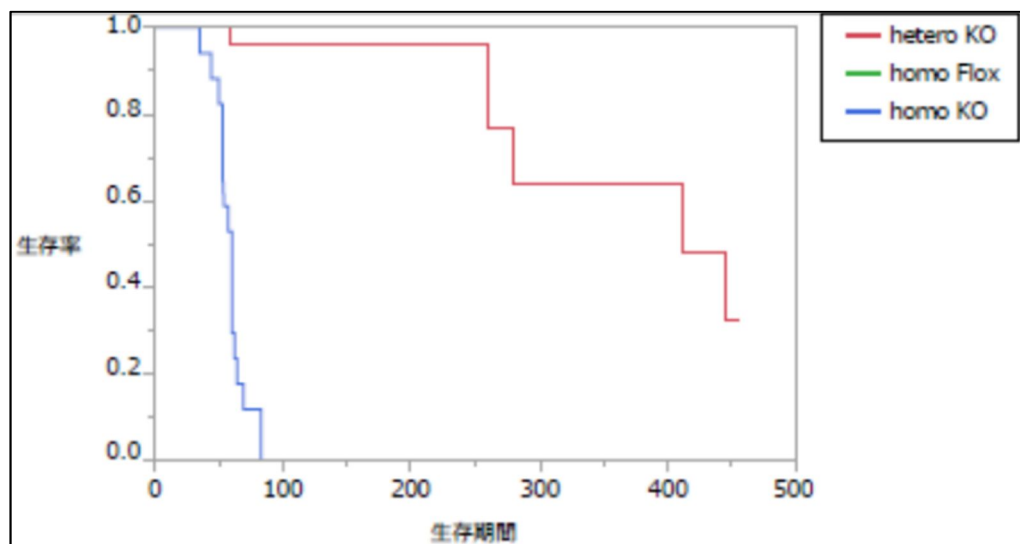


Fig.1 ホモ cPRMT5-KO マウスは生後 6-10 週間後に死亡する

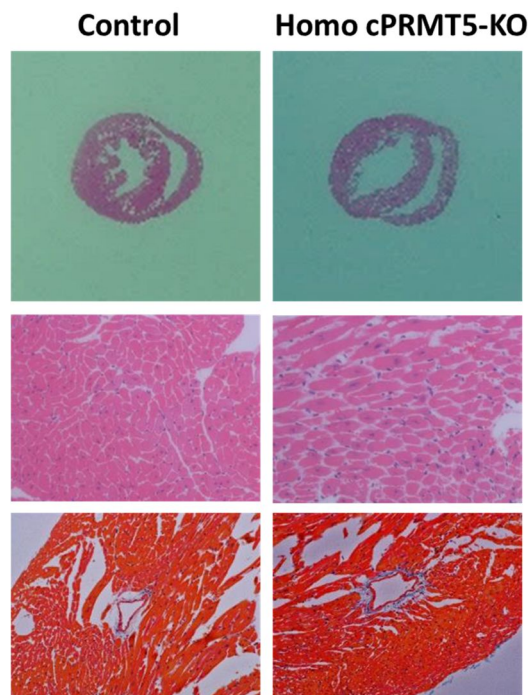
後 1 年までに半数が死亡した。生後 4 週間後のホモ型 cPRMT5-KO マウス及びコントロールマウスの心臓超音波検査を行ったところ、ホモ型 cPRMT5-KO マウスにおいて左室拡張期・収縮期内径(LV EDD、LVEDS)の有意な増大並びに左室内径短縮率(FS)の有意な低下が認められた。

Table.1 Echocardiographic parameter at 4 week-old						
	n	LVEDd (mm)	LVEDs (mm)	LVPWT (mm)	LVFS (%)	LVEF (%)
Control	10	3.04±0.06	1.43±0.07	0.92±0.03	53.2±1.6	88.5±1.3
Homo cPRMT5-KO	9	3.67±0.13	2.48±0.18	0.72±0.06	32.9±3.4	66.7±3.7

このマウスをサクリファイスし、心重量体重比を算出したところ、両マウスにおいて有意な差は認められなかった。HE 染色の結果、ホモ型 cPRMT5-KO マウスにおいて心筋細胞径の有意な増大が観察された。マッソントリクローム染色の結果、ホモ型 cPRMT5-KO マウスでは血管周囲の線維化の増加傾向がみられた。心臓組織から RNA を抽出、定量的 RT-PCR を行ったとこ

る、ホモ型 cPRMT5-KO マウスはコントロールマウスと比較して心不全マーカー遺伝子である ANF、BNP や Collagen1a1、Collagen3a1 が増加、SERCA2a、PGC1 発現減少していた。p53、p21、p16 の発現量に差は見られなかった。電子顕微鏡により心筋ミトコンドリアの観察を行ったところ、ホモ型 cPRMT5-KO マウスではミトコンドリア形状の異常、筋原線維の乱れがみられた。

以上の結果より、心筋細胞において PRMT5 は極めて重要な機能的分子であり、PRMT5 の欠損はミトコンドリア異常による心拡張および左室機能低下を引き起こし、拡張型心筋症様の症状を呈することが示唆された。この結果より、PRMT5 遺伝子異常が心筋症の要因となる可能性がある。また、PRMT5 は癌関連遺伝子として知られており、その阻害剤は固形癌やリンパ腫の治療薬として臨床試験が進んでいる。本成果は PRMT5 阻害による癌の治療は心臓に対する副作用の可能性を暗に示している。今後詳細なメカニズムを明らかにすることで、いまだメカニズム不明の拡張型心筋症の病態解明が期待される。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鳴田竜也
2. 発表標題 心臓特異的アルギニンメチル化酵素PRMT5ノックアウトは心筋症様症状を呈する
3. 学会等名 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部 合同学術大会2020
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------