

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2023

課題番号：18K15873

研究課題名（和文）Mtus1遺伝子による心肥大抑制機構の解明とその臨床応用

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of cardiac hypertrophy suppression by Mtus1 gene and its clinical application

研究代表者

伊藤 慎（Ito, Shin）

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・室長

研究者番号：20796560

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）：本研究において、心肥大抑制因子であるMtus1Aの発現制御について検討を行った。Mtus1Aは心臓においては心筋細胞特異的に発現し、ミトコンドリアに局在することがわかった。Mtus1Aの結合タンパクとしてImportin 7を同定し、Mtus1AはミトコンドリアにおいてImportin 7に結合し、リン酸化されたERKの核内輸送を阻害することで、心肥大抑制に関与することが示唆された。さらに、Mtus1の転写因子を調べたが、同定できなかった。重症心不全患者のゲノム解析や国内外のデータベースを用いて、Mtus1の遺伝子変異を調べたが、心不全の病態に関する変異は確認できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心不全患者の予後は改善してきたが、現在の治療薬やデバイス治療に反応しない予後不良な心不全患者が未だ多く存在する。また、肥大型心筋症などでは、心肥大を抑制する治療法が存在しないのが現状である。本研究では、Mtus1Aの結合タンパクであるImportin 7を同定し、Mtus1Aが心肥大を抑制する機序の解明につながった。本研究の成果は、将来的にMtus1Aを介した心不全・心肥大の新たな治療法の開発につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the regulation of Mtus1A expression, a suppressor of cardiac hypertrophy, and found that Mtus1A is expressed specifically in cardiomyocytes and localized in mitochondria. Importin 7 was identified as a binding protein for Mtus1A, suggesting that Mtus1A binds to Importin 7 in mitochondria and inhibits nuclear transport of phosphorylated ERK, thereby suppressing cardiac hypertrophy. Furthermore, we tried to identify the transcription factor of Mtus1 but could not. Genomic analysis of patients with severe heart failure and national and international databases were used to identify genetic mutations in Mtus1, but mutations involved in the pathogenesis of heart failure could not be identified.

研究分野：循環器

キーワード：心肥大 スプライシング

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

心不全の治療薬として、 $\beta$ 遮断薬、アンギオテンシン変換酵素阻害薬・受容体拮抗薬やアルドステロン拮抗薬などの有効性が明らかになり、心不全患者の予後は改善してきた。しかし、これらの薬剤に反応しない予後不良な心不全患者が未だ多く存在する。また、肥大型心筋症は 500 人中 1 人に認められる比較的頻度が高い疾患であるが、未だ心肥大を抑制する治療法が存在しないのが現状である。

心不全・心肥大の病態に関与する様々な分子ターゲットが報告されているが、未だその分子機序は不明な点が多く、新たな標的因子の探索が喫緊の課題である。近年、次世代シーケンズ法などの遺伝子解析技術の進歩により、ヒト遺伝子の 95%が選択的スプライシングを受けていることが明らかとなった。さらに、スプライシングの異常がガンや神経変性疾患の原因となることが報告されてきており、新たな治療ターゲットとなっている。しかし、循環器分野においてスプライシングに着目した研究はほとんどなく、心疾患におけるスプライシングの意義は不明である。そこで、我々は、マウス大動脈縮窄による圧負荷心モデルを作製し、エクソンアレイ法と次世代シーケンズによる網羅的スプライシング解析を行った。その結果、圧負荷心で遺伝子量が増加した遺伝子は 252 遺伝子であり、スプライシング変化が生じた遺伝子も 253 遺伝子と同等数変化していた。この知見により、心不全・心肥大の新たな病態解明において、スプライシング解析の重要性が示唆された。

### 2. 研究の目的

我々は、網羅的スプライシング解析を行い、心肥大に関与する遺伝子である *Mtus1* 遺伝子を同定した。基礎的検討の結果、*Mtus1* は圧負荷心で心臓特異的にスプライシング変化を生じ、増加した *Mtus1A* が心肥大を抑制することを明らかとした。また、*Mtus1A* の増加は、代償性肥大を抑制し収縮能低下に関与していることも明らかとした。しかし、*Mtus1* のスプライシング制御機構や、ヒト不全心・肥大型心での役割は不明である。そこで、本研究では *Mtus1* のスプライシング制御因子を同定すること、またヒトの肥大型心や不全心を用いて *Mtus1A* の発現変化と病態との関連を検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 1) *Mtus1* の局在および発現解析

新生児ラットの心筋細胞を単離し、アデノウイルスベクターを用いてタグ付きの *Mtus1A*, *Mtus1B*, *Mtus1C* バリエントを強制発現させ、その蛍光免疫染色にて局在を確認した。*Mtus1* の発現も心筋細胞を分画遠心により細胞小器官を抽出し、western blot にて局在を確認した。

さらに、マウス不全心・肥大型心、ヒト心筋組織を用いて組織学的に *Mtus1* の発現を確認した。

#### 2) *Mtus1A* バリエントの発現制御解析

新生児ラット心筋細胞に転写因子を強制発現させ、RT-PCR にて *Mtus1A* の発現変化を観察した。次に、ChIP アッセイを行い、候補となる転写因子と *Mtus1A* の結合を確認した。

*Mtus1A* の結合タンパク同定のため、心筋細胞にタグ付きの *Mtus1A*, *Mtus1C* を強制発現させ、免疫沈降を行った後、LC-MS/MS によるショットガン解析を行った。

#### 3) *Mtus1* 遺伝子の変異解析

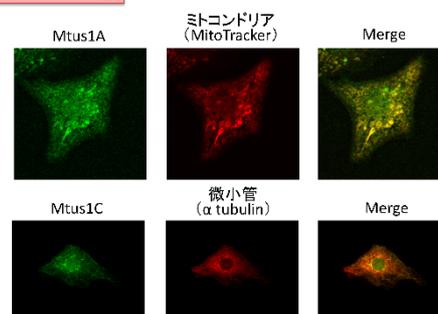
国内外のデータベースを用いた *in silico* 解析、及び重症心不全患者のゲノム解析を行い、*Mtus1* 遺伝子のアミノ酸変異を伴う遺伝子変異の同定を行った。

### 4. 研究成果

#### 1) *Mtus1* の局在および発現解析

仔ラット心筋細胞を用いて *Mtus1* の細胞内局在を検討したところ、*Mtus1A* はミトコンドリア、*Mtus1B* は核膜、*Mtus1C* は微小管と、局在が異なることがわかった。心肥大モデルマウスを用いた組織学的検討では、*Mtus1* は心筋細胞特異的に発現していることを明らかにした。また、ヒト心臓組織を用いた免疫染色でも、*Mtus1* は心筋細胞に発現しており、*Mtus1* の発現は心肥大の程度と関連することがわかった。

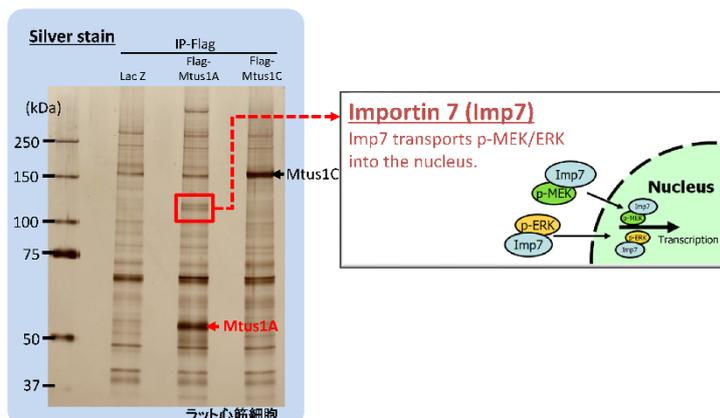
ラット心筋細胞での *Mtus1* の局在



#### 2) *Mtus1A* バリエントの発現制御

*Mtus1A* の発現制御を解明するため、心肥大の転写因子である *c-Myc* を仔ラット心筋細胞に強制発現させたところ、*Mtus1A* の発現増加がみられた。しかし、ChIP アッセイではその結合を示すことはできず、GATA2、CTCF、MEF2 についても検討したが、その結合は示せなかった。

次に、Mtus1A の結合タンパクを同定するため、LC-MS/MS によるショットガン解析を行った。その結果、Mtus1A の結合タンパクとして Importin 7 を同定した。Importin 7 はリン酸化された ERK, MEK を核内に transport ことが報告されている。Mtus1A はミトコンドリアにおいて Importin 7 に結合し、リン酸化された ERK の核内に輸送する阻害することで、心肥大抑制に関与することが示唆された。今後さらに検証していく。



### 3) Mtus1 遺伝子の変異解析

国内外のデータベースも含めた in silico 解析、当院の重症心不全患者 144 例のゲノム解析を行い、Mtus1 遺伝子の変異と心不全の病態への関与を検討した。

Mtus1 遺伝子の Missense 47 例、Gross deletion mutation 1 例、splice site の変異 3 例を認めたが、心不全の病態と関連するものは同定できていない。

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 伊藤 慎
2. 発表標題 Alternative splicing of Mtus1 mRNA affects cardiac hypertrophy and heart failure
3. 学会等名 第36回 国際心臓研究学会日本部会
4. 発表年 2019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
---------	---------