

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16168

研究課題名（和文）RNA結合タンパク質Arid5aの肺高血圧症病態における役割の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the role of RNA-binding protein Arid5a in the pathophysiology of pulmonary hypertension

研究代表者

森 啓悦（Hiroyoshi, Mori）

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・流動研究員

研究者番号：00794330

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）：肺高血圧症は肺動脈に狭窄・閉塞病変を生じ、肺動脈圧上昇から右心不全に至る難治性疾患であり、炎症病態が関与していることが報告されている。本研究は、mRNAの安定化に寄与することで炎症を制御しているArid5aという蛋白質に注目し、遺伝子改変マウスを用いて肺高血圧症モデルを作製し、Arid5aが肺高血圧症の病態形成に果たす意義を検討した。血行学的解析の結果、Arid5a欠損マウスでは肺高血圧症が改善することを明らかにした。また、免疫細胞の構成や血管構成細胞の遺伝子発現にも変化が起きている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によりArid5aが肺高血圧症の病態に関与していることが明らかとなった。mRNAの安定化に寄与する蛋白質が肺高血圧症の新たな治療標的となりうることを示したものであり、今後の新規治療薬創出の観点から意義のある成果である。

さらに、これまでは主に免疫細胞におけるArid5aの重要性が報告されてきたが、今回の研究では、肺高血圧症の病態形成においてArid5aは血管構成細胞においても重要な役割を果たしていることが示唆された。非免疫細胞におけるmRNAの安定化と疾患との関わりを示すものであり、学術的にも意義のある成果と言える。

研究成果の概要（英文）：Pulmonary hypertension is a refractory disease which cause stenotic and occlusive lesions in the pulmonary arteries, leading to elevated pulmonary arterial pressure and right heart failure. It has been reported that inflammation is an important factor in the pathogenesis of pulmonary hypertension. In this study, we focused on Arid5a, a protein which regulates inflammation by stabilizing mRNA of inflammation related genes. We constructed a pulmonary hypertension model using genetically modified mice and investigated the significance of Arid5a in the pathogenesis of pulmonary hypertension. Hemodynamic analysis revealed that the phenotype of pulmonary hypertension was attenuated in Arid5a-deficient mice. In addition, it was suggested that the composition of immune cells and the gene expression of vascular cells might be altered.

研究分野：免疫学、血管生物学

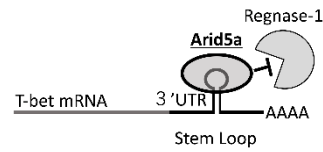
キーワード：Arid5a 肺高血圧症 慢性炎症 サイトカイン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

Arid5a は、mRNA の 3'UTR に存在する AU-rich element に結合する RNA 結合タンパク質の一つである。刺激に応答した転写因子 (T-bet や STAT3) や炎症性サイトカイン (IL-6) など特定の mRNA の 3'UTR に結合し、mRNA の安定化に寄与する (図 1)。その結果、サイトカインの産生や細胞の分化に影響を及ぼすことが報告されている (Masuda K, et al. *J Exp Med.* 213(4):605–619, 2016)。

図 1. Arid5a は mRNA の 3'UTR に結合する



肺高血圧症は、肺動脈に原因不明の内膜増殖や中膜肥厚を生じ、肺動脈圧上昇から右心不全に至る疾患である。現在の治療は血管平滑筋の弛緩を目的とした薬剤投与が中心であるが、進行した肺高血圧症の予後はいまだ不良である。そのため、分子病態の解明と、新たな作用機序の薬剤の開発が望まれている。肺高血圧症の病態形成において、近年は慢性炎症や免疫異常の関与にも注目が集まっている (Rabinovitch M, et al. *Circ Res.* 115:165–175, 2014)。IL-6 などの炎症性サイトカインは肺高血圧症の病態形成に重要であることが報告されており (Hashimoto-Kataoka T, et al. *PNAS.* 112(20):E2677–E2688, 2015)、サイトカインの mRNA 安定化に関与する分子である Arid5a も肺高血圧症の病態形成に重要であることが示唆される。しかし、肺高血圧症における Arid5a の役割については現時点では不明であり、これを明らかにすることは、肺高血圧症における慢性炎症・免疫異常の病態に対する理解を深め、新規治療薬の創出にも繋がると考えられる。

## 2. 研究の目的

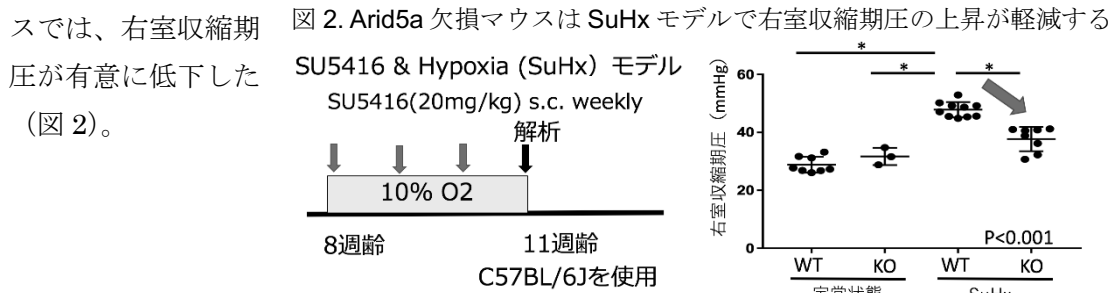
本研究では、肺高血圧症における RNA 結合タンパク質 Arid5a の役割を解明し、慢性炎症・免疫異常の病態に対する理解を深めることを目的とした。

## 3. 研究の方法

- i) Arid5a 欠損マウスを用いて、VEGFR 阻害剤として知られる SU5416 の投与と低酸素刺激を組み合わせた肺高血圧症モデル (SuHx モデル) を作製し、野生型マウスと血行動態や血管リモデリングの程度を比較した。
- ii) Arid5a flox マウスと、各種細胞特異的 Cre マウスを交配した細胞系統特異的 Arid5a 欠損マウスを用いて SuHx モデルを作製し、いずれの細胞系統の Arid5a が肺高血圧症病態の形成に重要であるかを検討した。細胞系統特異的 Cre マウスとしては、免疫細胞 (CD4-Cre)、血管内皮細胞 (VE-Cad-CreERT2、Tie2-Cre) を用いた。
- iii) 肺高血圧症モデルレーザーマイクロダイセクションを用いて、血管構成細胞における Arid5a の有無による遺伝子発現変化を RNAseq で解析した。
- iv) フローサイトメトリーを用いて、特に Th17、制御性 T 細胞 (Treg) に注目し、免疫細胞の構成の変化を解析した。

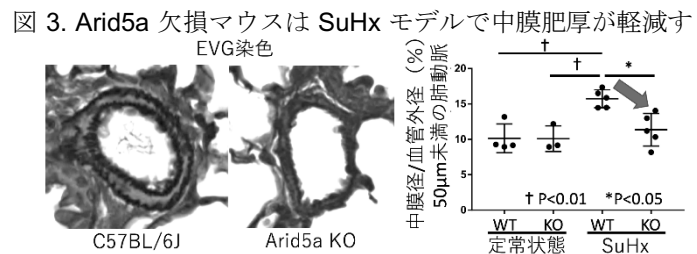
#### 4. 研究成果

VEGFR 阻害剤 (SU5416) の投与と低酸素刺激を組み合わせることで作製する肺高血圧症誘導モデル (SuHx モデル) を用いて Arid5a 欠損型マウスと野生型マウスを比較すると、Arid5a 欠損型マウスでは、右室収縮期圧が有意に低下した (図 2)。



また、肺組織の病理学的検討により、Arid5a 欠損型マウスでは血管リモデリングを示す中膜肥厚の有意な改善も認められた (図 3)。

このことから、RNA 結合タンパク質 Arid5a は、肺高血圧症の病態形成においても重要な役割を果たしていることが明らかとなった。



次に、どのような機構によって Arid5a 欠損状態が肺高血圧症病態の改善に繋がるのかを解明していくため、免疫細胞と血管構成細胞に分けて解析を行った。

免疫細胞に関して、CD4 特異的 Arid5a 欠損マウス (Arid5a flox/flox; CD4-Cre マウス) を用いて SuHx モデルを作製し野生型と比較したところ、右室収縮期圧などの肺高血圧症指標が改善していた。また、フローサイトメトリーを用いた解析により、CD4 陽性細胞特異的に Arid5a を欠損させることにより、CD4 陽性 T 細胞のサブポピュレーションが変化している可能性が示唆された。

一方、血管構成細胞に関しては、Arid5a 欠損マウスと野生型マウスでそれぞれ SuHx モデルを作製し、その肺組織の肺動脈およびその周囲における遺伝子発現変化を、マイクロダイセクションと RNA-seq を用いて解析した。この結果、野生型マウスと比較して、Arid5a 欠損マウスの SuHx モデルにおいては、Myl1、Actn2 などの遺伝子発現が上昇していることを見出した。さらに、血管内皮特異的 Arid5a 欠損マウス (Arid5a flox/flox; Tie2-Cre マウス、および Arid5a flox/flox; VE-Cad-CreERT2 マウス) を用いて SuHx モデルを作製し、野生型の SuHx モデルと比較した。この結果、血管内皮特異的 Arid5a 欠損マウスでは、右室収縮期圧などの肺高血圧症指標が改善することを見出した。

以上のことから、Arid5a は肺高血圧症の病態形成に重要であり、これには免疫細胞 (CD4 陽性細胞) の Arid5a、血管内皮細胞の Arid5a の両者が関与していることが明らかとなった。

このことは、mRNA の安定化に寄与する分子が肺高血圧症の新たな治療的となり得ることを示唆しており、今後の新規治療法開発に繋がる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石橋知彦, 正木豪, 稲垣薫克, 森啓悦, 浅野遼太郎, 岡澤慎, 中岡良和
2. 発表標題 CD4陽性細胞のIL-6シグナルは肺高血圧症の病態形成に重要である
3. 学会等名 第4回 日本肺高血圧・肺循環学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomohiko I, Masaki T, Inagaki T, Mori H, Asano R, Okazawa M, Nakaoka Y
2. 発表標題 gp130-mediated signaling in CD4-positive cells is important for the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension
3. 学会等名 第3回 日本循環器学会基礎研究フォーラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石橋知彦, 正木豪, 稲垣薫克, 森啓悦, 浅野遼太郎, 岡澤慎, 中岡良和
2. 発表標題 CD4陽性細胞におけるgp130シグナルの肺高血圧症病態形成における役割
3. 学会等名 第27回 日本血管生物医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Okazawa M, Inagaki T, Ishibashi T, Masaki T, Mori H, Asano R, Takei K, Nakaoka Y
2. 発表標題 TrkB has a protective role for right ventricular dysfunction under chronic hypoxia-induced PH
3. 学会等名 第3回 日本循環器学会基礎研究フォーラム
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
--	---------------------------	-----------------------	----