

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17588

研究課題名（和文）心筋細胞におけるPARPの新たな機能に関する研究

研究課題名（英文）Research on new functions of PARP in cardiomyocytes

研究代表者

加藤 愛巳（kato, manami）

東京大学・先端科学技術研究センター・特任研究員

研究者番号：60832045

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）：マウス圧負荷心不全モデルにおける心臓のシングルセル解析の結果、非心筋細胞に関しては、圧負荷時にPARP1を阻害することで、DNA damage responseを抑制していることが示唆された。心筋細胞に関しては、DNA damage関連遺伝子の明らかな変化は認められなかったが、mitophagy関連遺伝子の発現が亢進していた。PARP1を阻害することで、なんらかの機序を介し、機能不全に陥った、ミトコンドリアをmitophagyで処理できることで、ROSの産生を減少させたり、正常なミトコンドリアに効率よく酸素を供給できるようにした可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会が加速するにつれて、心不全患者数は増加の一途を辿っている。心不全は、多因子疾患であり、未だ予後不良の疾患である。本研究では、心不全モデルマウスを用いて、心臓における、さまざまな細胞の一細胞解析をおこなった。今まで、DNA損傷修復タンパクである、PARP1と心不全の関連を調べた研究はないが、本研究結果から、PARP1の機能を抑制することが、心不全を改善させる可能性があることを見出した。PARP1阻害薬が、心筋細胞におけるミトコンドリア品質管理機能を改善させることで、心機能改善に寄与していると考えられた。本研究を継続していくことで新たな心不全治療につなげていく。

研究成果の概要（英文）：Single-cell analysis of hearts from a mouse pressure-overloaded heart failure model suggested that inhibition of PARP1 suppressed the DNA damage response in noncardiomyocytes under pressure. In cardiomyocytes, no obvious changes in DNA damage-related genes were observed, but mitophagy-related genes were upregulated, suggesting that PARP1 inhibition may reduce ROS production by allowing mitochondria to process dysfunctional mitochondria with mitophagy through some mechanism. This may have reduced the production of ROS and enabled the efficient supply of oxygen to normal mitochondria.

研究分野：心不全

キーワード：PARP1 DNA損傷 心不全

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

様々な DNA 修復機構が知られている中で、PARP が関わる機構は以前から特によく研究されている。PARP 阻害薬による抗腫瘍効果に関しては、現在数種類の薬剤が上市され良好な成績を挙げている。また、心機能改善効果についても 2000 年代に圧負荷心不全モデルマウスや心筋虚血再還流モデルマウスを用いた多くの実験がなされ、いずれも一定の効果を認めていた。

なぜ PARP 阻害薬は DNA 修復を阻害するにも関わらず、心機能にプラスに働くのか。詳細なメカニズムは未だ明らかにされていない。2007 年に INO-1001 という PARP 阻害薬の臨床研究 (Phase 2) が芳しい成果を上げられず、Phase 3 に進めなかったことから、その後、PARP 阻害薬の心機能に与える影響に関する研究は、徐々に行われなくなった。

しかし、近年、申請者らのグループは、マウス心不全モデルにおいて、DNA 損傷 (特に single strand break) が影響を与えていること、心不全患者では、DNA 損傷でリクルートされる PAR が、予後に関わっていることを報告した。

そこで、申請者は左室圧負荷心不全モデルマウスに PARP 阻害薬を投与する実験を行なった。PARP 阻害薬投与群で、非投与群と比較し、心収縮力が改善していた。このことから、PARP が、心機能にとって、何らかの悪影響を及ぼしていると考えた。そこで、PARP には、DNA 修復とは全く異なった、転写調節因子としての役割がある、という仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、心不全における PARP の未知の役割を明らかにすることである。この目的を果たすことで、PARP 阻害薬における心保護作用のメカニズム解明につながると考えている。

3. 研究の方法

左室圧負荷心不全モデルマウスを用いて、PARP 阻害薬投与群と非投与群の心筋細胞を用いて、single cell RNA-seq を行う。同時に、非心筋細胞においても、single cell RNA-seq を行う。また、genetic perturbation でマウスの心筋特異的に PARP を抑制して心機能を評価し、PARP の心筋細胞における役割を明らかにする。PARP と PARG (PAR を離断する酵素) は圧負荷直後から活性化していることを RNA-seq のデータで確認しており、必要に応じて、PARG 阻害薬等を用いて、マウス解析を行う。

4. 研究成果

心臓におけるシングルセル解析の結果、非心筋細胞に関しては、圧負荷時に PARP1 を阻害することで、DNA damage response を抑制する可能性が示唆された。心筋細胞に関しては、DNA damage 関連遺伝子の明らかな変化は認められなかったが、mitophagy 関連遺伝子の発現が亢進していた。PARP1 を阻害することで、なんらかの機序を介し、機能不全に陥った、ミトコンドリアを mitophagy で処理できることで、ROS の産生を減少させ、正常なミトコンドリアに効率よく酸素を供給できるようになった可能性が考えられた。当初の計画の通りに、心筋細胞特異的に PARP1 を KO し、マウスに圧負荷をかけたが、予想に反して、著明な心機能低下を示した。PARP1 阻害薬の心保護効果の確認から開始した本研究だが、心筋細胞で完全に KO してしまうと、心保護効果はなく、逆に心機能がより低下してしまうことがわかった。心筋細胞においては、PARP1 阻害薬で適度に PARP1 の機能を抑制することが、心保護効果をもたらすのかもしれない。また、PARG 阻害薬もマウス圧負荷モデルに投与したが、こちらも、心保護効果は確認できなかった。これらの結果から、PARP1 阻害薬の心機能に与える影響は、ミトコンドリア機能に焦点をあて、

metabolome 等で、心筋細胞の OXPHOS を評価する必要があると考えられた。また、圧負荷モデルの PARP1 阻害薬投与群において、mitophagy 評価する必要がある。PARP1 の過剰な活性化は、NAD 不足を引き起こし、SIRT1 を介して、ATP 産生を低下させることが知られている。心筋細胞においても同様の現象が起きているか、検証が必要である。また、NAD と mitophagy の関連も今後の研究で、明らかにすべき課題である。

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 加藤 愛巳
2. 発表標題 PARP阻害薬は、心不全モデルマウスの心機能を改善させる
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
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
---------	---------