

# 科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料 〔令和5（2023）年度 中間評価用〕

令和5年3月31日現在

研究期間	：2021～2025
課題番号	：21H05045
研究課題名	：非分裂細胞である心筋細胞のDNA損傷と老化による心不全発症機序の 解明と応用
研究代表者氏名（ローマ字）	：小室 一成（KOMURO Issei）
所属研究機関・部局・職	：東京大学・医学部附属病院・教授
研究者番号	：30260483

## 研究の概要：

心筋細胞におけるDNA損傷の蓄積によって心不全は発症する。本研究で我々は（1）心筋細胞においてDNA損傷が生じる機序、（2）DNA損傷・p53シグナルが心筋細胞機能を破綻させる機序、（3）老化・不全化心筋が心不全を誘導する機序と心筋リプログラミングによる健常化の機序、（4）心不全患者における老化・不全化心筋の病的意義を明らかにしている。

研究分野：循環器内科学関連

キーワード：心不全、DNA損傷、老化、シングルセル解析、臨床応用

## 1．研究開始当初の背景

個体の生命を支える心臓のポンプ機能が低下すると心不全を発症する。世界的に心不全患者が急増している今、心不全の病態解明・新規治療法の開発は喫緊の課題である。心不全の主な原因は心筋梗塞・高血圧・弁膜症・心筋症であるが、いずれも心不全の前に心肥大を呈する。心肥大は壁ストレスを減らして心機能を維持するための代償機構であるが、その代償機構が破綻すると心臓の機能が低下し心不全へと移行する。我々は、DNA損傷によって誘導されるp53シグナルがこの過程を制御することを、世界に先駆けて報告した（Sano, Komuro et al. *Nature* 2007）。そしてDNA損傷の修復分子であるXRCC1をノックアウトするとDNA損傷が蓄積して軽度の圧負荷で心不全が誘導され、DNA損傷の蓄積が心不全の原因であることを証明した（Higo, Komuro et al. *Nat Commun.* 2017）。さらにマウス・ヒト心臓のシングルセルRNA-seq解析により、肥大心筋は代償型と不全型の2種類の心筋細胞に分岐し、不全型心筋への誘導にはDNA損傷・p53シグナルが必須であること（Nomura, Komuro et al. *Nat Commun.* 2018）DNA損傷のある不全心筋を多く持つ患者は治療にตอบสนองせず予後が不良である（Ko, Komuro et al. *JACC Basic Transl Sci.* 2019）ことを明らかにした。すなわち我々は、DNA損傷・p53シグナルが心不全発症の原因であることを解明してきた。

## 2．研究の目的

そこで本研究は、我々が構築してきた*in vivo* 網羅的遺伝子機能解析システム、細胞・時期特異的な老化誘導システム・老化細胞可視化システム、時空間的シングルセル解析技術、マルチオミックス解析の技術を応用して、（1）心筋細胞においてDNA損傷が生じる機序、（2）DNA損傷・p53シグナルが心筋細胞機能を破綻させる機序、（3）老化・不全化心筋が心不全を誘導する機序と心筋リプログラミングによる健常化の機序、（4）心不全患者における老化・不全化心筋の病的意義、について我々が独自に開発してきた網羅的*in vivo* 遺伝子機能解析・細胞特異的な老化誘導・少数細胞エピゲノム解析・時空間的シングルセル解析を駆使して解明する。本研究は、心不全の分子機序だけでなく、DNA損傷により発症する神経変性疾患、加齢による臓器傷害など、多くの疾患の機序の解明、臨床応用にも寄与すると考えられる。

## 3．研究の方法

### Step 1. 心筋細胞でDNA損傷が生じる機序の解明

CRISPR/Cas9とシングルセルRNA-seq解析を統合して我々が構築してきた*in vivo* Perturb-seqシステムを用いて、心筋細胞でDNA損傷が生じる機序を網羅的に解明する。

### Step 2. DNA損傷・p53シグナルが心筋細胞機能を破綻させる機序の解明

シングルセルRNA-seqにより心臓細胞の老化に関する時系列的な分子機序を解明し、エピゲノム解析により老化によるエピゲノム変化を捉える。さらに、超解像顕微鏡を用いて老化で生じる核内エピゲノム挙動の変化を理解し、心臓透明化技術を用いて老化細胞の心臓における空間的特性を理解する。

### Step 3. 老化・不全化心筋が心不全を誘導する機序と心筋健常化リプログラミング機序の解明

圧負荷心不全・心筋梗塞後心不全・p53誘導性老化に加えて、老齢マウスモデルを用いて、老化心筋がいかに周囲の細胞や微小環境に影響を与えて心臓リモデリングを起こしているかを時空間的に解明する。

### Step 4. 心不全患者における老化・不全化心筋の病的意義の解明

心筋DNA損傷の発生機序・老化心筋の誘導機序・老化心筋による心不全発症機序がヒト心不全患者において認められるかを、心臓シングルセルRNA-seq、組織空間的シングルセル解析、血液プロテオーム解析のマルチオミックス解析によって検証する。

#### 4. これまでの成果

##### Step 1. 心筋細胞で DNA 損傷が生じる機序の解明

心筋 DNA 損傷の分子機序を探索し、(1) NOX4 遺伝子を介したミトコンドリア ROS (Ko, Komuro et al. Nat Commun. 2022) (2) VDR 遺伝子を介したビタミン D 受容体シグナル (Ito, Komuro et al. submitted) (3) LMNA 遺伝子を介した核ラミナ機能 (Yamada, Komuro et al. Science Adv. in press) (4) CSRP3 遺伝子を介したメカノセンシング機構 (Yamada, Komuro et al. Nat Cardiovasc Res. 2022) が同定された。

##### Step 2. DNA 損傷・p53 シグナルが心筋細胞機能を破綻させる機序の解明

シングルセル解析によって、心筋老化の過程で DNA 損傷修復遺伝子の発現低下と NOX4 を介したミトコンドリア ROS が生じ、DNA 損傷・p53 シグナルの活性化が誘導されることがわかった (Ko, Komuro et al. Nat Commun. 2022)。またエピゲノム解析によって、DNA 損傷と転写のカップリングの存在が示唆された。

##### Step 3. 老化・不全化心筋が心不全を誘導する機序と心筋健常化リプログラミング機序の解明

シングルセル RNA-seq および空間的トランスクリプトーム解析を実施すると、心筋梗塞後の梗塞巣における心筋細胞で老化形質を呈してサイトカイン分泌が亢進することで心不全を増悪させる機序を解明した (Ko, Komuro et al. Nat Commun. 2022; Yamada, Komuro et al. Nat Cardiovas Res. 2022)。また我々は代償性肥大心筋の特徴的転写因子を同定し、この遺伝子で不全心筋の機能回復を誘導できることを解明した。

##### Step 4. 心不全患者における老化・不全化心筋の病的意義の解明

マルチオミクス統合解析によって、ヒト心不全組織における心筋 DNA 損傷 (Dai, Komuro et al. submitted) そこから分泌される IGFBP7 (Ko, Komuro et al. Nat Commun. 2022) 各種心不全病態における特徴的な分泌因子、心房細動の原因である ERR- $\gamma$  (Miyazawa, Komuro et al. Nat Genet. 2023) の同定に至った。

#### 5. 今後の計画

##### Step 1. 心筋細胞で DNA 損傷が生じる機序の解明

引き続き DNA 損傷に関連する遺伝子を網羅的に同定し、シングルセル RNA-seq により分子機序を解析する。in vivo Perturb-seq をヒト iPS 心筋細胞でも確立したため、心筋細胞で DNA 損傷が生じる機序の解析をヒト iPS 由来心筋細胞においても同時に解析して、マウスで得られた知見と比較検討していく。

##### Step 2. DNA 損傷・p53 シグナルが心筋細胞機能を破綻させる機序の解明

DNA 損傷修復・エピゲノム・転写制御の関係性を明らかにする。また我々は、心筋細胞だけでなく内皮細胞や免疫細胞の老化も見出すことに成功している。心筋細胞だけでなく、これらの内皮細胞や免疫細胞における細胞老化がどのように臓器の構築や機能に影響するかを詳細に理解していく。

##### Step 3. 老化・不全化心筋が心不全を誘導する機序と心筋健常化リプログラミング機序の解明

心筋健常化リプログラミングにおけるエピゲノム変化を詳細に理解することを目指す。そして、これが心筋細胞の細胞内構造にいかに関与しているかについて構造生物学的な解析を進める。さらに、空間的シングルセル解析技術を高めることで、老化・不全化心筋と周囲の細胞との関係性の詳細な理解を深める。

##### Step 4. 心不全患者における老化・不全化心筋の病的意義の解明

シングルセル解析の大規模化を進め、空間的シングルセル解析によって個々の心不全病態を層別化するような空間的バイオマーカーの同定を試みる。さらにゲノム解析と組み合わせることによって、遺伝要因がいかに環境要因とオーバーラップすることによって老化・不全化心筋が生じるかの分子機序の解明に迫る。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Yamada S, Nomura S, . . . [Komuro I](#) (31 人中 31 番目). TEAD1 trapping by the Q353R-Lamin A/C causes dilated cardiomyopathy. *Science Adv.* in press. 査読有
2. Miyazawa K, Ito K, Nomura S, . . . [Komuro I](#) (26 人中 26 番目). Cross-ancestry genome-wide analysis of atrial fibrillation unveils disease biology and enables cardioembolic risk prediction. *Nat Genet.* 2023 Feb;55(2):187-197. 査読有
3. Adachi Y, Ueda K, Nomura S, [Komuro I](#) (20 人中 20 番目). Being of perivascular adipose tissue regulates its inflammation and vascular remodeling. *Nat Commun.* 2022 Sep 7;13(1):5117. doi: 10.1038/s41467-022-32658-6. PMID: 36071032; PMCID: PMC9452496. 査読有
4. Yamada S, Nomura S, . . . [Komuro I](#) (21 人中 21 番目). Spatiotemporal transcriptome analysis reveals critical roles for mechano-sensing genes at the border zone in remodeling after myocardial infarction. *Nat Cardiovasc Res.* 2022;1:1072-1083. 査読有
5. Ko T, Nomura S, . . . [Komuro I](#) (27 人中 27 番目). Cardiac fibroblasts regulate the development of heart failure via Htra3-TGF- $\beta$ -IGFBP7 axis. *Nat Commun.* 2022 Jun 7;13(1):3275. 査読有

#### 7. ホームページ等

[https://cardiovasc.m.u-tokyo.ac.jp/study/system\\_cardiology/about](https://cardiovasc.m.u-tokyo.ac.jp/study/system_cardiology/about)