

解禁日時: 2020年10月27日(火)午後7時(日本時間)

プレス通知資料 (研究成果)



国立大学法人
東京医科歯科大学
TOKYO MEDICAL AND DENTAL UNIVERSITY

報道関係各位

2020年10月23日

国立大学法人 東京医科歯科大学

「変異型タンパク質の細胞質への蓄積が拡張型心筋症を重症化する」 —ゲノム編集による自然発症心房細動を合併する拡張型心筋症モデルマウスの確立—

【ポイント】

- スプライシング制御因子をコードする *RBM20* 遺伝子の変異に起因する重症の拡張型心筋症に関して、従来考えられていた *RBM20* の機能喪失ではなく、変異型 *RBM20* の細胞質での蓄積・機能獲得という新たな病態機序の存在を明らかにしました。
- 拡張型心筋症患者の遺伝子変異を持つ *Rbm20^{S637A}* 遺伝子改変マウスは、実際の症例と同様に重篤な心機能低下と心房細動・心室性不整脈を発症することを発見しました。
- ゲノム編集技術により作製されたこの遺伝子改変マウスは臨床例でみられる遺伝子変異を持つ世界初の自然発症心房細動モデルマウスであり、このマウスを用いることで拡張型心筋症や心房細動の病態メカニズムの更なる解明・新規治療法の開発が期待されます。

東京医科歯科大学難治疾患研究所の難病筋疾患研究プロジェクトに参画するフロンティア研究室(遺伝子発現制御学)の黒柳秀人准教授と生体情報薬理学分野の井原健介助教・古川哲史教授、および大学院医歯学総合研究科循環制御内科学分野の笹野哲郎教授らの研究グループは、同難治疾患研究所分子神経科学分野、同大学院医歯学総合研究科分子病態検査学分野、および大阪大学大学院生命機能研究科細胞核ダイナミクス研究室との共同研究で、細胞質に蓄積する変異型 *RBM20* タンパク質がマウスにおいて重症の拡張型心筋症の発症に寄与することを明らかにしました。この研究は文部科学省科学研究費補助金、東京医科歯科大学難治疾患共同研究拠点ならびに日本心臓財団の支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌 *Scientific Reports*(サイエンティフィック・レポート)に、2020年10月27日午前10時(英国時間)にオンライン版で発表されます。

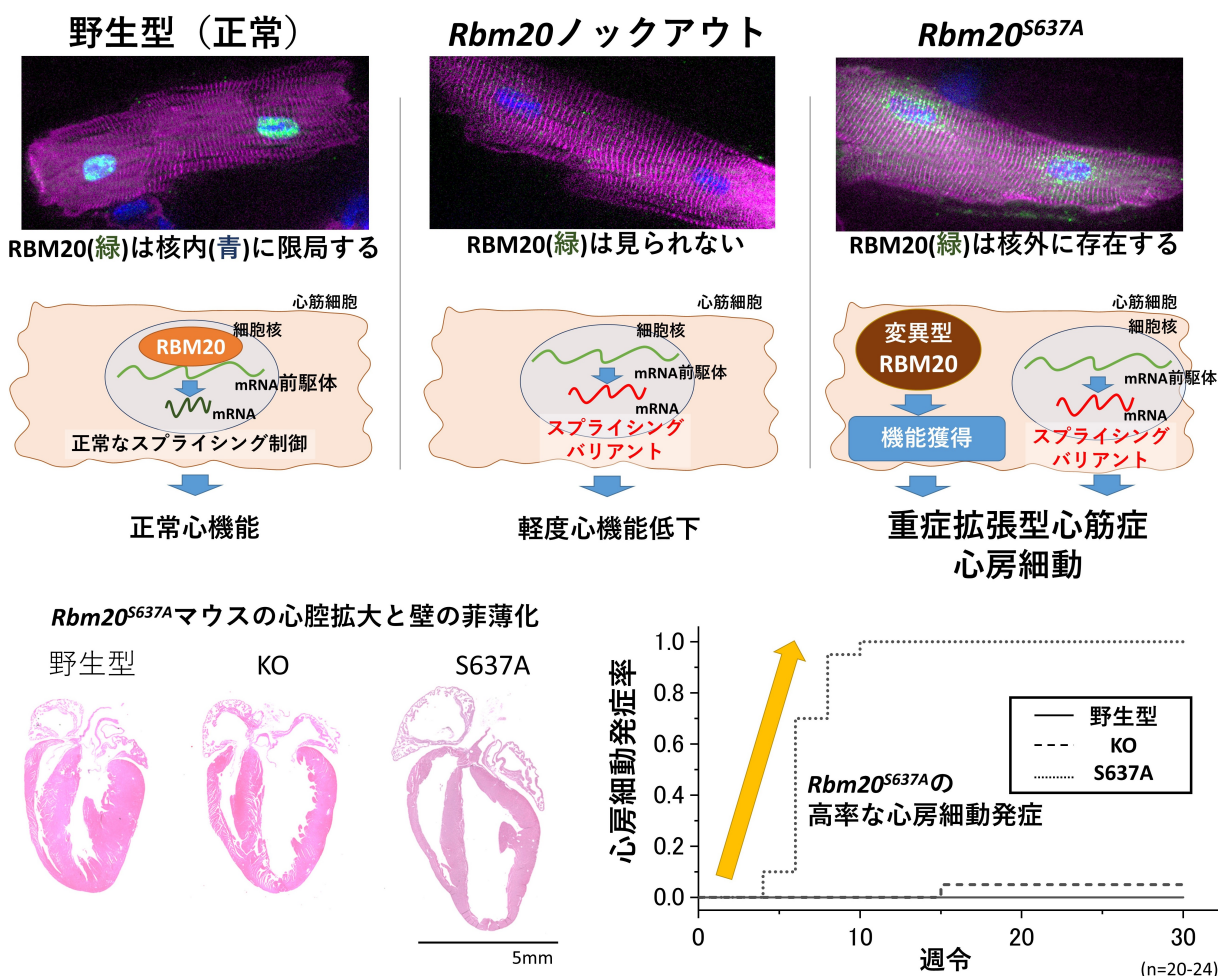
【研究の背景】

拡張型心筋症(DCM)は、心臓機能の低下や致死性不整脈を生じる難病です。しかし、その原因は長年不明のまま、医療技術の進歩にもかかわらず、いまだ根本的治療は心移植しかありません。近年の遺伝子解析により、DCM を起こす原因遺伝子が同定されるようになってきました。その中の一つが、スプライシング^{※1}制御因子をコードする *RBM20* 遺伝子です。従来は *RBM20* が遺伝子変異により機能を喪失し、他の DCM 原因遺伝

子のスプライシング制御異常を起こすことが DCM を起こす原因と考えられてきました。しかし、*RBM20* 変異による DCM は、他の遺伝子変異による DCM と比較してより重症であり、心室性不整脈や心房細動^{※2}といった不整脈を合併しやすいことが知られているにも拘わらず、これまでに報告された *Rbm20* 遺伝子改変動物ではこれらの症状が再現しないことから、*RBM20* 遺伝子の変異が DCM の重症化にどのように関係するかが不明でした。一方で、DCM 症例で見つかる *RBM20* 遺伝子の変異は RSRSP 配列と呼ばれる *RBM20* タンパク質内のごく一部の領域に集中していることが知られており、研究グループは今までにこの RSRSP 配列の遺伝子変異により *RBM20* タンパク質が細胞核に移行できなくなることを、培養細胞を用いた研究で明らかにしてきました。本研究では、この DCM 症例型変異を導入した *Rbm20* 遺伝子改変マウスの症状を詳しく解析しました。

【研究成果の概要】

研究グループは、実際の DCM 症例で発見された *RBM20* の RSRSP 配列内の1塩基置換変異^{※3}を持つ遺伝子改変マウス(*Rbm20*^{S637A} マウス)と *RBM20* の機能を喪失させた *Rbm20* ノックアウトマウス(*Rbm20* KO マウス)を、ゲノム編集技術^{※4}を用いて作製しました。それぞれのマウスの心臓組織でのスプライシング制御異常の程度を評価したところ、両マウスとも心臓における *RBM20* によるスプライシング制御は完全に欠損しており、*Rbm20*^{S637A} マウスにおいては *RBM20* タンパク質が核内に移行できないため、核内でのスプライシング制御が完全に喪失すると考えられました。



図：想定される *Rbm20* 遺伝子変異による拡張型心筋症重症化メカニズム

次に、両マウスの心臓の機能と形態を評価したところ、DCM 症例型の *Rbm20*^{S637A} マウスは全例の個体が重度の心機能低下を呈して観察期間中に心房細動を発症し、一部の個体では致死性不整脈や突然死が見られました。さらに、心臓の形態も DCM に類似して心室と心房が拡大し心室壁が薄くなるなど、臨床で見られる DCM の特徴と一致しました。一方、*Rbm20* KO マウスは従来の報告どおり軽度の心機能を呈するのみであり、不整脈はほとんど発生せず、形態も野生型(正常)マウスと変わりはありませんでした。

スプライシング制御機能が同様に完全に欠損しているにもかかわらず、*Rbm20* KO マウスでは軽度の変化しか見られず、*Rbm20*^{S637A} マウスでは重症 DCM を生じることは、*RBM20* 遺伝子変異による重症 DCM は従来考えられてきたスプライシング異常だけでは説明がつかず、未知の病態メカニズムが存在すると考えられました。

そこで、細胞内での *RBM20* タンパク質の分布を検討すると、野生型マウスでは *RBM20* が細胞核の中に限局するのに対し、*Rbm20*^{S637A} マウスで変異型 *RBM20* タンパク質は細胞核中には存在せず、細胞質に蓄積して顆粒状構造を形成していました。一方、*Rbm20* KO マウスでは細胞核内にも細胞質にも *RBM20* タンパク質は認められませんでした。

マウスの心臓組織を用いて網羅的遺伝子発現解析(RNA-seq)を行うと、*Rbm20*^{S637A} マウスは野生型マウスや *Rbm20* KO マウスと遺伝子発現パターンが大きく異なっており、骨格筋遺伝子の発現が誘導されている一方、複数の DCM 原因遺伝子の発現が抑制されていました。

Rbm20 KO マウスと *Rbm20*^{S637A} マウスの違いは細胞質に変異型 *RBM20* タンパク質が存在するかしらないのみであり、*RBM20* タンパク質が正常と異なり細胞質に蓄積して新たな機能を獲得することが心臓での遺伝子発現の変容、ひいては心臓機能低下、心房細動をはじめとした不整脈をもたらすことが本研究により明らかになりました。

【研究成果の意義】

本研究において、DCM 重症化の新たなメカニズムが明らかになったことで、DCM の病態メカニズムの更なる解明・新規治療法の開発が期待されます。また、一般的にマウスで心房細動を生じるのは極めて稀と考えられており、今までの心房細動モデルと呼ばれるマウスは薬剤投与、電気刺激や手術など様々な介入によりようやく心房細動が誘発できるもので、心房細動の自然発症は数種のトランスジェニックマウス^{※5}でしか報告がありません。本研究で用いた *Rbm20*^{S637A} マウスはゲノム編集により導入した 1 塩基のみのヒト症例型遺伝子変異により生後 10 週までに全例で発作性心房細動を自然発症し、経時的に発作性から持続性へと移行する臨床心房細動の自然経過を再現する世界初の遺伝子改変マウスであり、心房細動の病態解明・治療法開発にも大きく寄与すると期待されます。

【用語解説】

※1 スプライシング……細胞核内でゲノム DNA 上の遺伝子からメッセンジャーRNA (mRNA)が作られ、細胞質へ移動した後に mRNA からタンパク質が生成される。ゲノム DNA から転写された長い mRNA 前駆体は細胞核内でスプライシングと呼ばれる加工を経て成熟した mRNA となる。多細胞生物では1つの遺伝子から、細胞・組織間で異なるスプライシングを行い多様な mRNA(スプライシングバリエント)を作ることにより、細胞・組

織間のタンパク質の多様性を生み出しており、このようなスプライシングを特に選択的スプライシングと呼ぶ。

※2 心房細動……脈の乱れを生じる日本で最も頻度の高い不整脈疾患である。日本国内だけでも約100万人で心房細動と診断され、診断がついていない患者(いわゆる「隠れ心房細動」)を含めると170万人になると推定されている。脳梗塞の主要な原因の1つであり、心房細動による脳梗塞は特に重度の麻痺を起こすことが多く、寝たきりや四肢麻痺を起こす。さらに心臓に負荷を生じやすく、約1/3の患者で心不全を合併するなど一般人口でも問題となる疾病である。抗不整脈薬やカテーテルアブレーションなどの治療法が存在するが、治療困難例も多く新たな治療法が求められている。拡張型心筋症など基礎心疾患のある患者に合併すると心不全を増悪させる。

※3 1塩基置換変異……DNAは構成因子である4つの塩基(アデニン(A)、チミン(T)、グアニン(G)、シトシン(C))の配列によって表現される。連続する3塩基の並び方によって、最終的に生成されるアミノ酸が決定され、それが連続していくことにより1つのタンパク質を形成することになる。1塩基置換は遺伝子の最小単位の変異であり、本研究で扱った1塩基置換は1アミノ酸置換を生じるミスセンス変異である。

※4 ゲノム編集……生物や細胞のゲノムDNAの塩基配列をデザインどおりに改変する技術。疾患研究を含むさまざまな生命科学研究に応用されている。最も正確で使いやすい「CRISPR(クリスパー)/Cas9(キャスナイン)」法を開発した米仏の2人の女性研究者が今年のノーベル化学賞を受賞することが決まっている。

※5 トランスジェニックマウス……遺伝子改変マウスの一種で、ゲノムDNAに外来遺伝子を組み込んだマウスである。組み込む外来遺伝子の機能を検討するために長らく用いられてきたが、実際の生体内での遺伝子発現とは異なる不自然で過剰な遺伝子発現とならざるを得ないため、病態モデルマウスとしては実際の症例の病態を反映しているとは言い難い。

【論文情報】

掲載誌: Scientific Reports

論文タイトル: A missense mutation in the RSRSP stretch of *Rbm20* causes dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation in mice.

【研究者プロフィール】

井原 健介 (イハラ ケンスケ) Ihara Kensuke

東京医科歯科大学難治疾患研究所

生体情報薬理学分野 助教

・研究領域 循環器内科学、不整脈、心臓電気生理学



黒柳 秀人（クロヤナギ ヒデヒト） Kuroyanagi Hidehito

東京医科歯科大学難治疾患研究所

フロンティア研究室（遺伝子発現制御学） 准教授

・研究領域 分子生物学



【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学難治疾患研究所

生体情報薬理学分野 井原 健介（イハラ ケンスケ）

フロンティア研究室（遺伝子発現制御学） 黒柳 秀人（クロヤナギ ヒデヒト）

TEL: 03-5803- 4951/4695

E-mail: iharcvm@tmd.ac.jp/kuroyana.end@tmd.ac.jp

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL: 03-5803-5833 FAX: 03-5803-0272

E-mail: kouhou.adm@tmd.ac.jp