

## スプライシング制御因子 RBM20 の細胞質凝集体による拡張型心筋症の重症化メカニズムの解明

井原健介

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

### 【研究の背景】

心筋特異的なスプライシングの制御因子である RNA-Binding Motif 20 (RBM20) は拡張型心筋症 (DCM) の原因遺伝子として知られている。RBM20 遺伝子変異は RBM20 の核内移行に重要な RSRSP 配列に集中し、その遺伝子変異により RBM20 の核移行能が喪失するために核内でのスプライシング異常を生じ DCM を発症すると考えられてきた。しかし、我々はこの RSRSP 配列内変異を持つ *Rbm20*<sup>S637A</sup> マウスが *Rbm20* ノックアウト (KO) マウスと異なり重篤な心機能低下を呈し、心房細動 (AF) を高率に合併するなど、RBM20 変異による DCM で報告されている臨床所見を再現することを見出した<sup>1)</sup>。*Rbm20*<sup>S637A</sup> マウスにおけるスプライシング異常は KO マウスと同等であり、両者の違いは細胞質に核移行できない変異型 RBM20 が存在することと考えられた。また、免疫染色では変異型 RBM20 が細胞質で凝集体を形成することが見出された。RBM20 は RNA 結合タンパク質であることから、RBM20 が細胞質においても RNA と結合することで凝集体を形成し病態形成に関与していると仮説を立て、本研究では RBM20 の凝集体形成と RNA 結合能の関連について検討した。

### 【目的】

RBM20 の RNA 結合が RBM20 細胞質凝集体形成に及ぼす影響を明らかとする。

### 【方法】

- ① RBM20<sup>S637A</sup> の RNA 結合ドメイン内の変異を加えた変異体を作成し、RBM20<sup>S637A</sup> の RNA 結合能が RBM20 凝集体形成に寄与しているかを、培養心筋細胞を用いて in vitro で検討した。
- ② RBM20 の標的 RNA モチーフをもとに decoy RNA を作成し、decoy RNA の投与が細胞質凝集体形成に影響を及ぼすか新生仔マウス心筋細胞を用いて in vitro で検討した。
- ③ *Rbm20*<sup>S637A</sup> マウスの心筋組織と抗 RBM20 抗体を用いて RNA 免疫沈降 (RIP) を行った。

### 【結果】

- ① RBM20<sup>S637A</sup> の RNA 結合ドメインへの点変異導入 (R591M) およびドメイン欠損 ( $\Delta$ RRM) により RBM20 細胞質凝集体形成は著明に抑制された (図 1)。
- ② Decoy RNA により RBM20 細胞質凝集体形成は抑制された。 (図 2)
- ③ RIP の結果、RBM20 は細胞質においても特異的に RNA と結合していることが示され (図 3)、細胞質で結合している RNA は遺伝子発現量自体が低下している傾向が見られた。

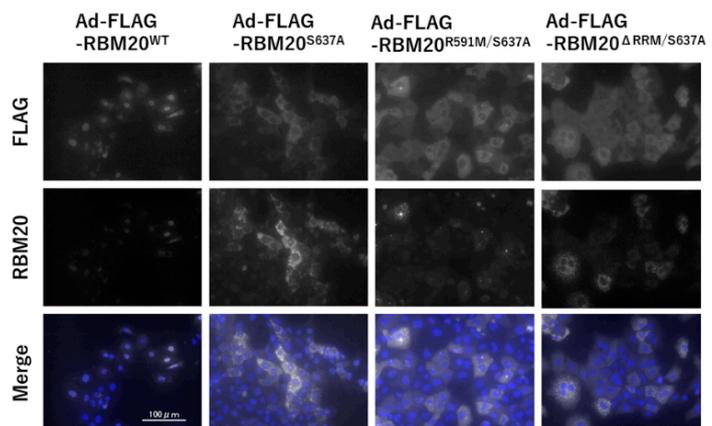


図 1 細胞質凝集体形成に RNA 結合が必要である

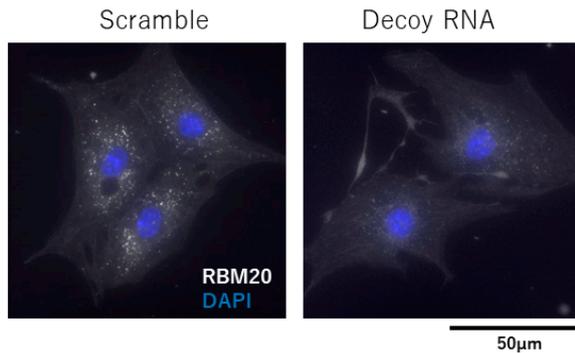


図2 Decoy RNAはRBM20細胞質凝集体形成を抑制する

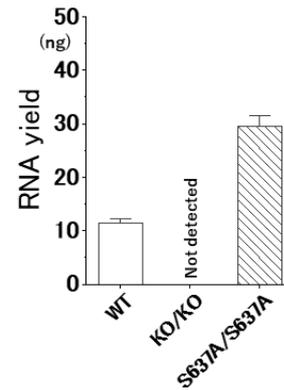


図3 RNA免疫沈降でのRNA取得量

### 【考 察】

*Rbm20* の RSRSP 配列内の遺伝子変異は、RBM20 の細胞質への蓄積を生じ、RNA との結合を介して凝集体形成を生じると考えられた。また、細胞質 RBM20 は RNA の安定性(分解)に寄与している可能性が示唆された。細胞質に RBM20 が存在すること自体が DCM 発症・重症化に重要なのか、もしくは凝集体を形成することが重要なのか更なる検討が必要である。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

DCM は心内腔の拡大、心収縮能低下さらに致死性心室性不整脈を呈する疾患群であり、心不全の重要な基礎心疾患の一つであるが病態メカニズムの解明が進んでおらず、近年の医療技術の進歩による最新の薬物治療や心臓再同期療法・補助人工心肺などが開発・応用されるもいまだ根本的治療は心移植しかない難病である。特に RBM20 変異による DCM は心移植に至る年齢が若く、重症の DCM として知られている<sup>2)</sup>。本研究は RBM20 変異による拡張型心筋症発症の分子メカニズム解明を目的としており、その結果として RBM20 細胞質凝集体が治療標的となりうることを示し、decoy RNA がその凝集体解除のための介入手段として有効である可能性が見いだされた。また、原因遺伝子ごとの DCM の分子病態の違いが明らかになることにより DCM における原因遺伝子毎の個別化医療につながると考えられる。

さらに近年大規模ゲノムワイド関連解析で *RBM20* は非 DCM 患者においても AF 関連遺伝子として報告された<sup>3)</sup>。*RBM20* は AF 発症に寄与する重要な分子であると考えられ、本研究により *RBM20* の細胞質における作用を解明することは DCM 病態解明にとどまらず、脳梗塞の主要な原因となり社会的損失が大きく、やはり新たな治療法開発が望まれている AF についても全く新たな病態解明・治療法開発に波及効果をもたらすと期待される。

### 【参考・引用文献】

- 1) Ihara, K. *et al.* A missense mutation in the RSRSP stretch of *Rbm20* causes dilated cardiomyopathy and atrial fibrillation in mice. *Sci Rep* **10**, 17894 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74800-8>
- 2) Kayvanpour, E. *et al.* Genotype-phenotype associations in dilated cardiomyopathy: Meta-analysis on more than 8000 individuals. *Clin. Res. Cardiol.* **106**, 127-139. <https://doi.org/10.1007/s00392-016-1033-6> (2017)
- 3) Nielsen, J. B. *et al.* Biobank-driven genomic discovery yields new insight into atrial fibrillation biology. *Nat. Genet.* **50**, 1234-1239. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0171-3> (2018).