

新規 lncRNA 「Caren」の心保護作用メカニズムの解明と新規心不全治療法の開発

佐藤迪夫

熊本大学大学院 生命科学研究部 代謝・循環医学分野 分子遺伝学講座

【研究の背景】

申請者らは、新規遺伝子の同定・発現および機能解析を同時に実施できるマウス ES 細胞を用いた網羅的遺伝子トラップ法と lncRNA がコードされるゲノム領域を示す特定のヒストンメチル化ドメインを指標にした探索法を併用して、新規 lncRNA の探索を行った。その結果、単離した 1000 以上のクローンから、**心筋細胞の細胞質に高発現する新規 lncRNA Caren: Cardiomyocyte enriched non-coding transcript を同定した。**さらにマウスを用いた研究により、Caren は加齢や心不全病態において著明に減少すること、トランスジェニック(Tg)マウスや、Adeno-associated virus6(AAV6)を用いた遺伝子導入により、不全心で減少した Caren を補充したマウスでは心機能が改善することを見出した。以上より、**Caren が心保護作用を示し、心機能恒常性維持に重要な役割を果たしていることを明らかにした。**助成頂いた本研究では、①Caren の心臓保護作用のメカニズム解明、②ヒト CAREN オルソログの同定と機能解析を目的に、研究を実施した。

【目 的】

近年、申請者らは新規に同定した long non-coding RNA (lncRNA) : **Cardiomyocyte-enriched noncoding transcript : 「Caren」**が、DNA 損傷応答の軽減とミトコンドリア生合成・機能亢進を介して保護作用を発揮することを見出した。本申請研究の目的は、①**Caren の直接の標的分子の 1 つである Hint1 の制御法を解明すること**、②**ヒト CAREN オルソログの心保護作用を検証し、ヒト心不全に対する新規治療法開発の基盤研究を行うこと**、の 2 点である。

【方 法】

本申請研究では、「Caren」の Hint1 制御の解明に取り組む。また、Caren および、その標的分子を心不全に対する新規治療法として臨床へ展開するための基盤研究を実施する。

【結 果】

申請者は、Caren の心臓保護作用のメカニズムとして、Caren が①Hint1 の翻訳抑制を介して、ATM の活性化を抑制し、DNA 損傷応答を軽減すること、②Tfam の増加を介してミトコンドリア生合成を亢進し、心臓におけるエネルギー代謝・供給を改善させることを明らかにした。また、ヒト、マウスのゲノム染色体の対応する部位から 6 種のヒト CAREN 候補転写物を同定し、候補転写物 1 と 3 がヒト心臓組織において発現し、候補転写物 1 の発現量が BNP 発現量と逆相関することを見出し、候補転写物 1 がヒト CAREN オルソログであることが示唆された。申請者は、以上の結果を論文発表した(Sato, et al. *Nat commun* 12(1):2529, 2021)。さらに、ヒト CAREN オルソログを過発現させたマウスを作製し、圧負荷誘導心不全モデルにより、心保護作用を検証した。その結果、ヒト CAREN オルソログ Tg マウスは圧負荷誘導性心不全に抵抗することが明らかとなった。24 ヶ月齢の高齢マウスを用いた加齢による心機能変化を検証した。その結果、高齢マウスでは心臓収縮能の低下に加えて拡張能が有意に低下していることを確認した。さらに、高齢マウスの心臓では ROS: Reactive Oxygen Species が増強し、「Hint1-ATM 経路」の活性化を介した DNA 損傷応答の亢進を認めた。また、高齢マウス心臓ではミトコンドリア数が減少

し、電子顕微鏡による解析では、クリステ構造が粗雑化・破綻していることを見出した。さらに、AAV6-*Caren* 投与により、これらの加齢性変化が是正され、心臓収縮・拡張能のみならず、運動耐用能が改善するデータを得ている。

【考 察】

本申請研究で得られた結果から、*Caren* の補充は収縮機能のみならず拡張機能の改善をもたらすことが期待される。さらに、高齢マウスを用いた研究では、*Caren* の補充による心機能の改善により、運動耐用能の改善をもたらすことが示され、*Caren* 補充による健康寿命の延伸に寄与する可能性が示唆された。一方で、ヒト *CAREN* 候補転写物 1 T マウスが圧負荷誘導性心不全に抵抗した結果については、慎重な判断を要する。マウス *Caren* とヒト *CAREN* 候補転写物 1 の配列における相同性は低いためである。今後、*in silico* 解析による構造解析を行い、マウス *Caren* との相同性や functional domain についての検証の必要がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

Caren の心臓保護作用のメカニズムは、既存の心不全治療薬と異なり、①DNA 損傷応答の軽減、②ミトコンドリア機能維持・改善による心臓へのエネルギー供給の維持・増進の 2 つであり、本申請研究の結果は、心不全に対する画期的な新規治療法の開発につながる基盤研究となった。さらに、本申請研究で実施した高齢マウスにおける拡張機能低下に対して、AAV6-*Caren* の投与が E/A の改善をもたらした結果より、ミトコンドリア機能低下や DNA 損傷応答の亢進が HFpEF: heart failure with preserved Ejection fraction の要因の一つである可能性が示唆される。そのため、本申請研究で得られた結果は、これまで十分に解明されていない HFpEF の分子基盤の一端を解明に寄与することができた。さらに、ヒト *CAREN* を用いた新規の心不全治療開発へ向けた基盤研究となった。

【参考・引用文献】

1. **Michio Sato**, Tsuyoshi Kadomatsu, Keishi Miyata, Junco S. Warren, Zhe Tian, Shunshun Zhu, Haruki Horiguchi, Aman Makaju, Anna Bakhtina, Jun Morinaga, Taichi Sugizaki, Kaname Hirashima, Kumiko Yoshinobu, Mai Imasaka, Masatake Araki, Yoshihiro Komohara, Tomohiko Wakayama, Shinichi Nakagawa, Sarah Franklin, Koichi Node, Kimi Araki, Yuichi Oike. The lncRNA *Caren* antagonizes heart failure by inactivating DNA damage response and activating mitochondrial biogenesis. *Nat commun*, 2021 May 5;12(1):2529.