

## アルギニンメチル化反応を介する心臓線維化転写制御機構の解明

刀坂泰史

静岡県立大学 薬学部 分子病態学分野

### 【研究の背景】

申請者はこれまでに心不全分子標的治療薬の開発を目的として、心不全におけるヒストンアセチル化酵素を中心としたエピジェネティック制御因子の機能解析を行っている。心臓線維化の抑制は有効な治療戦略と考えられるが、そのメカニズムには不明な点が多く、治療薬ははまだ開発途上である。心不全時、心臓線維芽細胞で様々な遺伝子発現が変化し、活性化さらに筋線維芽細胞へ分化する。その転写制御には、ヒストンのアセチル化やメチル化などのエピジェネティックな制御機構が寄与しているが、非常に複雑な過程であり、いまだ完全な解明には至っていない。

### 【目的】

慢性心不全において心臓線維芽細胞では様々な遺伝子発現が変化し、活性化さらに筋線維芽細胞へ分化する。これにはエピジェネティックな制御機構が寄与しているが、その詳細はいまだ解明されていない。申請者はこれまでにアルギニンメチル化酵素 PRMT5 が線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化を促進する分子であることを見出した。しかし、心臓線維芽細胞における PRMT5 の機能と線維化制御メカニズムは不明である。そこで本研究は、慢性心不全時の線維化における PRMT5 の機能とそのメカニズムを明らかにすることを目的とする。

### 【方法】

心不全時の心臓線維芽細胞における PRMT5 の機能解析を行うために線維芽細胞特異的 PRMT5-KO マウスを用いた。Postn-Cre マウスと PRMT5-flox マウスを交配し、線維芽細胞特異的 PRMT5-KO マウスを作成した。大動脈狭窄術を施した圧負荷応答性の心不全マウスモデルを作成し、超音波検査にて心機能を評価した。さらに心臓を摘出し、遺伝子発現解析および組織学的評価 (HE 染色、MT 染色) を行い、心不全に伴う線維化を評価した。

PRMT5 による心臓線維芽細胞内の遺伝子発現制御の詳細な分子機構について検討した。具体的には心臓線維芽細胞を初代培養し、PRMT5 のノックダウンまたは阻害剤を添加し、TGF- $\beta$  刺激後のヒストン修飾についてウエスタンブロットおよび ChIP アッセイにて検討した。また TGF- $\beta$  シグナル伝達因子である Smad3 と PRMT5 との分子間相互作用について免疫沈降法 (IP-WB) にて検討した。

### 【結果】

Postn-Cre マウスと PRMT5-flox マウスを交配し、線維芽細胞特異的 PRMT5-KO マウスを作成した。圧負荷応答により、心機能の減少がみられた。さらに Prmt5<sup>flox/flox</sup> マウスと比較して、線維芽細胞特異的 PRMT5-KO マウスにて心機能の減少が改善した。組織学的評価および遺伝子発現解析の結果、圧負荷にて亢進した線維化関連遺伝子の発現が線維芽細胞特異的な PRMT5 の KO にて減少した。

心臓線維芽細胞での検討結果、PRMT5 阻害剤およびノックダウンにより TGF- $\beta$  により誘導された線維化反応 (プロリン取り込み亢進、遺伝子発現) が抑制された。TGF- $\beta$  により PRMT5 がリクルートされ、ヒストンをジメチル化することを示した。TGF- $\beta$  によるヒストンのジメチル化は PRMT5 阻害剤により抑制された。

## 【考 察】

本研究より下記を明らかにした。

- ① アルギニンメチル化酵素 PRMT5 は心臓線維化に寄与する分子である。
- ② PRMT5 はヒストンのアルギニンメチル化反応を介して、線維化関連遺伝子の転写を制御する。

本成果は、アルギニンメチル化酵素による線維化制御機構を明らかにした世界で初めての報告となる。心臓線維化は慢性心不全において生じることがわかっており、線維化阻害による心不全治療戦略が提唱されているものの、いまだ治療薬は開発されていない。線維化には筋線維芽細胞への分化によるコラーゲン分泌亢進が必須の過程として知られており、その分化過程において転写を介する遺伝子発現制御が重要である。よってエピジェネティクス機構の重要性が推測できるが、ほとんど解明されていないのが現状である。上述した本研究成果は心臓線維化の新たなメカニズムを解明し、その科学的意義は大きいと考える。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

一方、がんなどの別疾患を対象としてエピジェネティクス関連を標的とする創薬が進んでおり、線維化におけるエピジェネティクス機構の解明はこれら開発薬の利用も可能となるため、線維化における治療薬標的の同定は大きな期待がある。

## 【参考・引用文献】

1. Tallquist MD, Molkenin JD. Redefining the identity of cardiac fibroblasts. *Nat Rev Cardiol*, 14, 484-491 (2017).
2. Khalil H, et al. Fibroblast-specific TGF-beta-Smad2/3 signaling underlies cardiac fibrosis. *J Clin Invest* 127, 3770-3783 (2017).