

ゲノム持続可能性の理解を通じた心不全の病態解明と制御

野村征太郎

東京大学大学院医学系研究科 先端循環器医科学講座

【研究の背景】

我々は、心不全になると心臓マクロファージが C1q を分泌して Wnt シグナルを介して全身臓器を老化させることを見出し、心不全が老化を誘導する分子機序を解明した (Naito, Nomura et al. Cell 2012)。続いて、世界で初めて心臓シングルセル RNA-seq 解析を確立し、DNA 損傷・p53 シグナルが不全心筋を誘導することを解明した (Nomura et al. Nat Commun. 2018)。また、DNA 損傷を修復する XRCC1 を KO 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ること (Higo, Nomura et al. Nat Commun. 2017)、心筋 DNA 損傷によって心不全患者の治療応答性を高精度で予測できることを報告した (Nomura et al. JACC Basic Transl Sci. 2019)。そして、致死性不整脈を有する心不全患者にドパミン D1 受容体陽性心筋を発見し、これが不整脈の原因であることを解明した (Yamaguchi, Nomura et al. Nat Commun. 2020)。またマルチオミックス解析から、線維芽細胞が分泌する TGF- β が心筋 DNA 損傷を誘発して IGFBP7 などの SASP を誘導することを見出した (Nomura et al. Nat Commun. 2022)。さらに、空間的トランスクリプトーム解析によって心筋梗塞境界部におけるメカノセンシング機構が心臓リモデリングを代償することを解明した (Nomura et al. Nat Cardiovasc Res. 2022)。

【目 的】

ゲノムは持続可能な社会を形成している。様々な刺激で誘発される DNA への損傷を修復しながら、その遺伝情報を転写で読み取ることで、細胞や個体の一生 (ライフサイクル) は支えられている。しかしながら、この「ゲノム持続可能性」が破綻すると心不全などの老化関連疾患を発症する。本研究は、心不全においてゲノム持続可能性を制御する分子に着目し、その分子挙動や相分離機序を解明し、心不全の上流・反応場・下流を一貫して解明することを目指した。

【方 法】

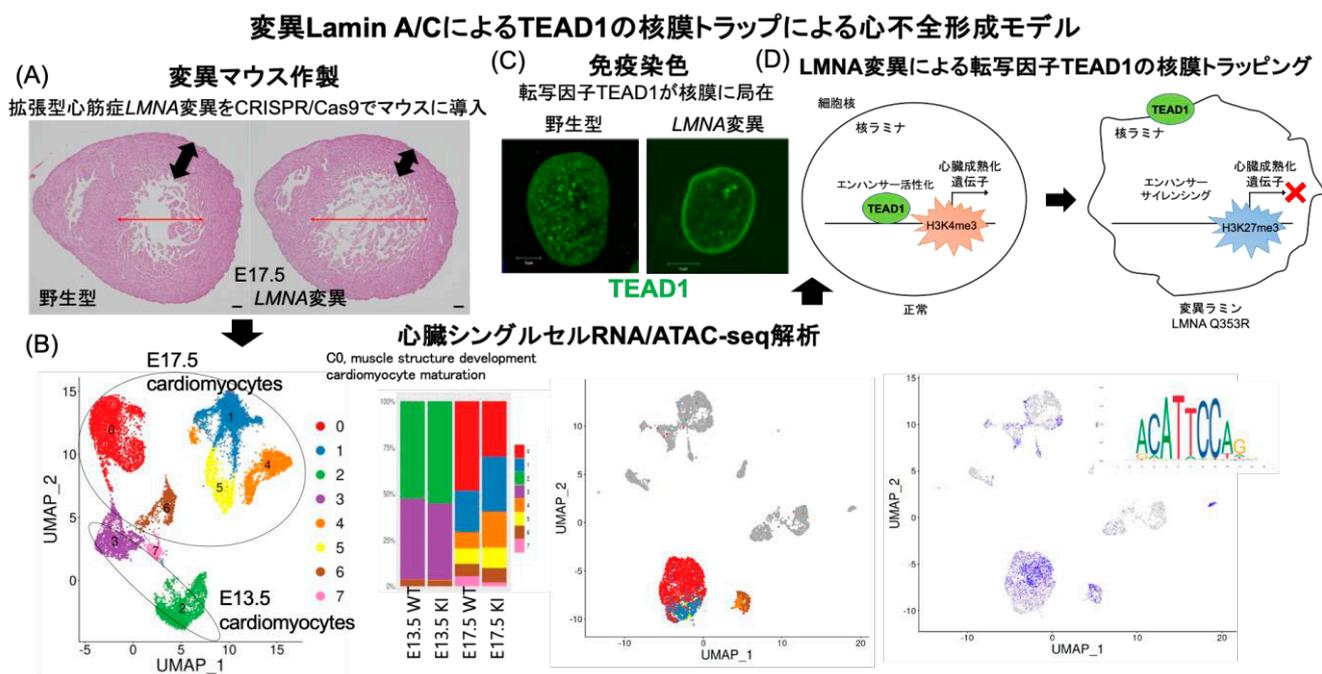
心不全発症に関わる遺伝子変異の検出にはゲノム解析を用い、その変異をマウスに誘導するためには CRISPR/Cas9 を用いた。また細胞の表現型の解析のためにはシングルセル RNA-seq/ATAC-seq や超解像イメージングを用い、転写因子などの機能解析には CUT&RUN を用いた。また iPS 細胞由来心筋細胞の機能解析には、iPS 心筋オルガノイドを用い、化合物を添加して機能的意義について評価した。

【結 果】

心筋細胞のゲノム DNA の損傷修復を制御し、かつ心不全病態を制御する遺伝子 LMNA に着目し、東京大学医学部附属病院にてこの遺伝子に変異を持ち拡張型心筋症を発症する家系を同定した (p.Q353R)。そしてその患者から iPS 細胞を樹立するとともに、同一変異を CRISPR/Cas9 で誘導したマウスモデルも構築した。この変異マウスは出生直前に拡張型心筋症・心不全を発症して死亡することを確認した。そして、患者 iPS 由来心筋細胞および変異マウス心筋細胞において gH2A.X 染色で見出される DNA 損傷が蓄積していることを確認した。

そこで変異マウスの心臓を出生前に摘出して細胞を単離し、シングルセル RNA-seq 解析およびシングルセル ATAC-seq

解析を行ってそのデータを統合することによって、変異マウスで E17.5 の時期に減少する細胞クラスターを同定した(図 A、B)。この細胞集団は心筋の成熟化遺伝子の特徴的に高発現していることから、変異マウスでは心筋細胞の成熟化が阻害されていると考えられた。さらにシングルセル ATAC-seq のデータから、この細胞集団のオープンクロマチン領域には転写因子 TEAD1 の結合配列が濃縮していることが判明した(図 B)。またこの LMNA 遺伝子変異を有する心筋細胞において TEAD1 の局在を免疫染色で調べてみると、TEAD1 タンパク質は変異 LMNA 遺伝子がコードする変異 Lamin A/C タンパク質とともに核膜に局在しており、実際に変異 Lamin A/C タンパク質と TEAD1 は特異的に結合することがわかった(図 C)。すなわち、この LMNA 遺伝子変異から生じる変異 Lamin A/C タンパク質が転写因子 TEAD1 を核膜にトラップすることによって心筋成熟化に関わる遺伝子の発現が減弱して心不全病態を呈する、という分子機序を解明することができた(図 D)。また化合物 TT-10 を用いて TEAD1 による転写を活性化すると病態を改善できることも示した(Nomura et al. Science Adv. 2023)。



【考 察】

本研究によって、ゲノム持続可能性を制御する因子 Lamin A/C (遺伝子名: LMNA) に転写因子を核膜にトラップする機能があることを解明した。これまで LMNA 遺伝子変異は DNA 損傷蓄積を介して老年症の発症に関わることが知られていたが、転写制御の変化を生じる新たな分子機序を解明することができた。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

これまで拡張型心筋症や心不全を対象とした治療薬は原因となる分子機序を標的とするものではなかったが、本研究によって原因となる分子機序に介入することで病態の改善を誘導できることを証明することができ、循環器疾患における精密医療の発展に大きく貢献すると期待される。

【参考・引用文献】

1. **Nomura S**, Yamada S, Ko T, Ito M, Sassa T, Okuma H, Sato M, Imasaki T, Kikkawa S, Zhang B, Yamada T, Seki Y, Fujita K, Katoh M, Kubota M, Hatsuse S, Katagiri M, Hayashi H, Hamano M, Takeda N, Morita H, Takada S, Toyoda M, Uchiyama M, Ikeuchi M, Toyooka K, Umezawa A, Yamanishi Y, Nitta R, Aburatani H, Komuro I. TEAD1 trapping by the Q353R-Lamin A/C causes dilated cardiomyopathy. *Sci Adv.* 9(15):eade7047 (2023).

2. **Nomura S**, Ko T, Yamada S, Fujita K, Fujita T, Satoh M, Oka C, Katoh M, Ito M, Katagiri M, Sassa T, Zhang B, Hatsuse S, Yamada T, Harada M, Toko H, Amiya E, Hatano M, Kinoshita O, Nawata K, Abe H, Ushiku T, Ono M, Ikeuchi M, Morita H, Aburatani H, Komuro I. Cardiac fibroblasts regulate the development of heart failure via Htra3-TGF- β -IGFBP7 axis. *Nat Commun.* 13, 3275 (2022).
3. **Nomura S**, Komuro I. Precision medicine for heart failure based on molecular mechanisms: The 2019 ISHR Research Achievement Award Lecture. *J Mol Cell Cardiol.* 152, 29-39 (2021).
4. Koyama S, Ito K, Terao C, Akiyama M, Horikoshi M, Momozawa Y, Matsunaga H, Ieki H, Ozaki K, Onouchi Y, Takahashi A, **Nomura S**, Morita H, Akazawa H, Kim C, Seo JS, Higasa K, Iwasaki M, Yamaji T, Sawada N, Tsugane S, Koyama T, Ikezaki H, Takashima N, Tanaka K, Arisawa K, Kuriki K, Naito M, Wakai K, Suna S, Sakata Y, Sato H, Hori M, Sakata Y, Matsuda K, Murakami Y, Aburatani H, Kubo M, Matsuda F, Kamatani Y, Komuro I. Population-specific and trans-ancestry genome-wide analyses identify distinct and shared genetic risk loci for coronary artery disease. *Nat Genet.* 52, 1169-1177 (2020).
5. Yamaguchi T*, Sumida TS*, **Nomura S**, Satoh M, Higo T, Ito M, Ko T, Fujita K, Sweet ME, Sanbe A, Yoshimi K, Manabe I, Sasaoka T, Taylor MRG, Toko H, Takimoto E, Naito AT, Komuro I. Cardiac dopamine D1 receptor triggers ventricular arrhythmia in chronic heart failure. *Nat Commun.* 11, 4364 (2020). *Co-first authors.
6. **Nomura S**, Ko T, Fujita K, Uemura Y, Yamada S, Tobita T, Katoh M, Satoh M, Ito M, Domoto Y, Hosoya Y, Amiya E, Hatano M, Morita H, Fukayama M, Aburatani H, Komuro I. Quantification of DNA Damage in Heart Tissue as a Novel Prediction Tool for Therapeutic Prognosis of Patients With Dilated Cardiomyopathy. *JACC Basic Transl Sci.* 4, 670-680 (2019).
7. **Nomura S**, Satoh M, Fujita T, Higo T, Sumida T, Ko T, Yamaguchi T, Tobita T, Naito AT, Ito M, Fujita K, Harada M, Toko H, Kobayashi Y, Ito K, Takimoto E, Akazawa H, Morita H, Aburatani H, Komuro I. Cardiomyocyte gene programs encoding morphological and functional signatures in cardiac hypertrophy and failure. *Nat Commun.* 9, 4435 (2018).
8. **Nomura S**, Tobita T, Fujita T, Morita H, Asano Y, Onoue K, Ito M, Imai Y, Suzuki A, Ko T, Satoh M, Fujita K, Naito AT, Furutani Y, Toko H, Harada M, Amiya E, Hatano M, Takimoto E, Shiga T, Nakanishi T, Sakata Y, Ono M, Saito Y, Takashima S, Hagiwara N, Aburatani H, Komuro I. Genetic basis of cardiomyopathy and the genotypes involved in prognosis and left ventricular reverse remodeling. *Sci Rep.* 8, 1998 (2018).
9. Higo T, Naito AT, Sumida T, Shibamoto M, Okada K, **Nomura S**, Nakagawa A, Yamaguchi T, Sakai T, Hashimoto A, Kuramoto Y, Ito M, Hikoso S, Akazawa H, Lee JK, Shiojima I, McKinnon PJ, Sakata Y, Komuro I. DNA single-strand break-induced DNA damage response causes heart failure. *Nat Commun.* 8, 15104 (2017).
10. Sumida T, Naito AT, **Nomura S**, Nakagawa A, Higo T, Hashimoto A, Okada K, Sakai T, Ito M, Yamaguchi T, Oka T, Akazawa H, Lee JK, Minamino T, Offermanns S, Noda T, Botto M, Kobayashi Y, Morita H, Manabe I, Nagai T, Shiojima I, Komuro I. Complement C1q-induced activation of β -catenin signalling causes hypertensive arterial remodelling. *Nat Commun.* 6, 6241 (2015).
11. Naito AT, Sumida T, **Nomura S**, Liu ML, Higo T, Nakagawa A, Okada K, Sakai T, Hashimoto A, Hara Y, Shimizu I, Zhu W, Toko H, Katada A, Akazawa H, Oka T, Lee JK, Minamino T, Nagai T, Walsh K, Kikuchi A, Matsumoto M, Botto M, Shiojima I, Komuro I. Complement C1q activates canonical Wnt signaling and promotes aging-related phenotypes. *Cell.* 149, 1298-313 (2012).