

核酸認識機構を介した心筋細胞老化と心不全発症メカニズムの解明

東邦康智

自治医科大学 分子病態治療研究センター

【研究の背景】

心不全はあらゆる心疾患に伴う心臓の構造的機能的変化(心リモデリング)の終末像であり、血液を送り出すポンプ機能が低下した状態である。心不全は死亡率が高く、認知機能や活動度の低下につながるため、その発症機序の解明と新規治療法の開発が急務である。

心不全は加齢関連疾患である。加齢関連疾患の病態には細胞老化が寄与する。「老化細胞」は「不可逆的に細胞周期が停止した老化関連分泌形質(SASP)因子を分泌する生細胞」であり、細胞老化の原因はDNA損傷とされる。SASP因子は炎症性サイトカイン等で構成され、新たな心筋細胞老化(老化の伝播)や心不全を引き起こすが、その詳細な機序は不明である。

炎症シグナルは心リモデリングを引き起こす。我々は病的ストレスが心臓で炎症を引き起こす機序と心リモデリングにおける炎症シグナルの役割を解明した¹⁻³⁾。心負荷は炎症性転写因子NF- κ Bを活性化する。その結果産生される炎症性サイトカインIL-1 β は代償性心肥大に必須であるが、持続的な炎症シグナル活性化は心不全を引き起こす。興味深いことに、心筋細胞での酸化ストレス産生やミトコンドリアDNA障害には炎症シグナルが必要であることを発見した。しかし、炎症シグナルが代償性心肥大から心不全への移行を引き起こす機序は不明である。

我々は、ゲノム・スケールのCRISPR表現型スクリーニングにより、その抑制が心筋細胞保護的に作用する因子としてDDX41を同定した。DDX41はmRNAスプライシングやrRNAプロセッシングによる翻訳効率の変化及びR-loop構造の解除に寄与するRNAヘリカーゼである。R-loop構造はDNA:RNAハイブリッドと非鋳型一本鎖DNAで構成され、その形成部位はDNA損傷を受けやすい。また、DDX41は二重鎖DNAのセンサーでもあり、その下流のDNAセンサーであるSTINGを介してウイルス由来DNAやミトコンドリアDNAを感知して炎症を惹起する⁴⁾。これまでの検討で、DDX41が心不全期に心筋細胞で発現が増加し、心筋細胞における炎症や老化関連遺伝子の発現に寄与することを見出している。

本研究では、DDX41と核酸との双方向性相互作用を「核酸認識機構」と位置づけ、核酸認識機構を介した心筋細胞老化促進と老化伝播のメカニズムを解明する。

【目 的】

本研究の目的は、心筋細胞におけるDDX41によるRNA代謝やR-loop形成の変化、及びDDX41の機能発現における蛋白質相互作用とDNAセンサーSTINGの役割を明らかにし、核酸認識機構を介した心筋細胞老化促進と老化伝播メカニズムを明らかにすることである。

【方 法】

初代培養心筋細胞にDDX41を過剰発現させ、トランスクリプトーム解析、Cut&Tag法によるR-loop形成の解析、免疫沈降/質量分析解析を行い、コントロール群と比較した⁵⁾。また、心筋細胞特異的Ddx41過剰発現(Ddx41-Tg)マウスとSting欠損マウスを交配し、Ddx41-Tg;Sting欠損マウスを作成し、同マウスに大動脈弓縮窄術による圧負荷を加えて、Sting欠損マウスの表現型と比較した。

【結 果】

トランスクリプトーム解析のデータを用いて RNA スプライシングの評価を行ったところ、DDX41 は筋収縮に重要な役割を果たす横行小管形成に関連する遺伝子のスプライシングパターンを変化させることが明らかとなった。また、R-loop 形成の解析では、DDX41 により R-loop 形成パターンが変化することが分かった。さらに、DDX41 はスプライシングやエネルギー代謝、プロテアソーム分解に関連する蛋白質に加えて、エクソソームに関連する蛋白質と相互作用をすることを明らかにした。

Ddx41-Tg;Sting 欠損マウスの解析では、Sting 欠損マウスと比較して、圧負荷後の心リモデリング及び心不全が悪化することが分かった。

【考 察】

細胞老化は、セントラルドグマにおける様々な経路が変容することで引き起こされることが報告されている。また、細胞老化は SASP 因子を介して伝播することが明らかにされている。しかし、具体的な分子実態と機序は明らかではない。

本研究では、DDX41 が RNA スプライシング、及び DNA 損傷や転写効率に関連する R-loop 形成に深く寄与することを明らかにした。また、DDX41 がエクソソーム分泌に関与する可能性も見出した。さらに、DDX41 の心筋細胞における機能発現において、STING を介さないメカニズムの重要性を明らかにした。これらの結果は、DDX41 がセントラルドグマの様々な階層における構造・機能変容に寄与することを示唆するほか、エクソソームを介した老化伝播メカニズムにも関与する可能性を示している。さらに、DDX41 の DNA センサー機能が、直接的に DDX41 の機能発現に影響を与える可能性を示唆している。

以上より、核酸認識機構を介した心筋細胞老化と心不全発症メカニズムの一端が明らかとなった。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

超高齢化社会である我が国で罹患率が急増している心不全は、高齢者の認知機能や活動度低下に寄与する。社会の活力維持や医療コスト削減には心不全発症機序解明と新規治療法開発が急務である。

本研究の成果は、核酸認識機構を介した心筋細胞老化とその伝播を標的とする、新規心不全治療の開発につながる。

【参考・引用文献】

- Higashikuni Y, Liu W, Numata G, Tanaka K, Fukuda D, Tanaka Y, Hirata Y, Imamura T, Takimoto E, Komuro I, Sata M. NLRP3 Inflammasome Activation Through Heart-Brain Interaction Initiates Cardiac Inflammation and Hypertrophy During Pressure Overload. *Circulation*. 2023;147:338-355.
- Nakamura S, Numata G, Yamaguchi T, Tokiwa H, Higashikuni Y, Nomura S, Sasano T, Takimoto E, Komuro I. Endoplasmic reticulum stress-activated nuclear factor- κ B signaling pathway induces the upregulation of cardiomyocyte dopamine D1 receptor in heart failure. *Biochem Biophys Res Commun*. 2022;637:247-253.
- Higashikuni Y, Tanaka K, Kato M, Nureki O, Hirata Y, Nagai R, Komuro I, Sata M. Toll-like receptor-2 mediates adaptive cardiac hypertrophy in response to pressure overload through interleukin-1 β upregulation via nuclear factor κ B activation. *J Am Heart Assoc*. 2013;2:e000267.
- Pham PT, Fukuda D, Nishimoto S, Kim-Kaneyama JR, Lei XF, Takahashi Y, Sato T, Tanaka K, Suto K, Kawabata Y, Yamaguchi K, Yagi S, Kusunose K, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Shimada K, Kanematsu Y, Takagi Y, Shimabukuro M, Setou M, Barber GN, Sata M. STING, a cytosolic DNA sensor, plays a critical role in atherogenesis: a link between innate immunity and chronic inflammation caused by lifestyle-related diseases. *Eur Heart J*. 2021;42:4336-4348.
- Higashikuni Y, Platt C, Hastings MH, Chen WCW, Guerra JRB, Tokuyama T, Torizal FG, Liu W, Obana T, Bayer AL, Whipple H, Kuznetsov A, Yeri A, Turissini C, Kitchen RR, Shibayama K, Matsumura T, Takeda N, Uosaki H, Asnani AH, Lu TK, Rosenzweig A. Mitigation of Doxorubicin Cardiotoxicity With Synergistic miRNA Combinations Identified Using Combinatorial Genetics en masse (CombiGEM). *JACC CardioOncology*. 2025;7:396-410.