



TITLE:

Lionheart LincRNA alleviates cardiac systolic dysfunction under pressure overload(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Tsuji, Shuhei

CITATION:

Tsuji, Shuhei. Lionheart LincRNA alleviates cardiac systolic dysfunction under pressure overload. 京都大学, 2021, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2021-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k23060>

RIGHT:

京都大学	博士 (医学)	氏 名	辻 修平
論文題目	Lionheart LincRNA alleviates cardiac systolic dysfunction under pressure overload (長鎖非コード RNA Lionheart は圧負荷による心機能低下を緩和する)		
(論文内容の要旨)			
<p>高齢化社会に伴い、心疾患は日本人の死因の第二位となっている。心不全を呈すると浮腫や呼吸困難を認め、入院加療を要することが多い。臨床研究により予後改善効果のある薬剤がガイドラインにも記載はされているが、心不全患者は増加の一途であり新しい治療標的の特定が必要と考えられる。最近の Genome-wide association study によりヒトゲノム内に未知の機能をもつ転写産物が多くあることがわかり、その大部分が長鎖非コード RNA であった。心不全における長鎖非コード RNA(lncRNA)の機能はまだ完全には定義されておらず、その機能を研究することが新しい治療選択につながる可能性があるため本研究を行った。</p> <p>マウスの心不全のモデルとしては横行大動脈縮窄モデル(TAC モデル)を用いた。手術2週間後の心肥大期と手術8週後の心不全期においてマイクロアレイ解析を行い、両時期において遺伝子発現が上昇する lncRNA をスクリーニングした。その中で種をこえて遺伝子配列が保存されている新しい lncRNA を同定し、<i>Lionheart</i> と名付けその機能解析を行った。</p> <p><i>Lionheart</i>-KO マウスを作成したところ、KO マウスでは TAC 手術後に野生型マウスと比較して心機能が増悪することが分かった。心臓には <i>Myh6</i> と <i>Myh7</i> の 2 つのミオシンアイソフォームが存在している。<i>Myh6</i> は胎生期には発現が少ないものの成体では発現が上昇し、心不全や加齢に伴い発現が低下する。一方で <i>Myh7</i> はその逆の発現パターンを呈する。心不全におけるミオシンシフトとして知られているが、その発現パターンが変化するメカニズムについてはよくわかっていない。KO マウスでは TAC 手術後に <i>Myh6</i> の発現が低下していた一方で <i>Myh7</i> の発現に関しては有意な差を認めなかった。そのため <i>Lionheart</i> はミオシンの発現量に影響を与えている可能性が考えられた。RNA pull down アッセイにより <i>Lionheart</i> に結合するタンパク質を解析し、最も特異的に結合するタンパク質として Purine-rich binding-protein A (PURA)を同定した。PURAは <i>Myh6</i> の purine nucleotide-rich (PNR) element に結合することで <i>Myh6</i> の発現を制御することが報告されている。ChIP アッセイの結果、KO マウスでは野生型マウスと比較して心臓核内に PURA-PNR complex が多く存在し、また RNA EMSA により <i>Lionheart</i> と PURA の結合力は PURA と PNR element の結合力より強いことを認めた。従って、<i>Lionheart</i> は PURA と <i>Myh6</i> の結合を阻害することで <i>Myh6</i> の発現を上昇させることが明らかとなった。また新生児マウス心筋培養細胞への <i>Lionheart</i> を過剰発現、アデノ随伴ウイルスを用いた <i>Lionheart</i> の過剰発現でも <i>Myh6</i> の発現が上昇することを確認した。</p> <p><i>Lionheart</i> は心筋に分化させた iPS 細胞や心不全患者の左室心筋生検サンプルでも検出が可能であり、肺動脈楔入圧や血中 BNP レベルとも相関関係を認めた。</p> <p>以上のデータより <i>Lionheart</i> は心不全において保護的な役割をすることが考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

マウスの大動脈縮窄(TAC)モデルを用いて心肥大、心不全に関わる新規の長鎖非コード RNA(lncRNA)の同定を試みた。TAC 手術2週間後の心肥大期と8週後の心不全期においてマイクロアレイ解析を行い、両時期において遺伝子発現が上昇する lncRNA を検索した。さらに、その中で種をこえて遺伝子配列が保存されている新しい lncRNA を *Lionheart* と名付け、そのノックアウト(KO)マウスを作成して機能解析を行った。TAC 手術後には *Lionheart*-KO マウスでは心不全が増悪していた。*Lionheart* は DNA/RNA 結合タンパク質である Purine-rich binding-protein A (PURA)と結合することで PURA と myosin heavy chain 6 (*Myh6*)との結合を阻害し、*Myh6* の発現を上昇させ TAC 後の心機能低下を緩和する働きがあることを明らかにした。*Lionheart* は心不全患者の左室心筋生検サンプルでも検出でき、その発現量は肺動脈楔入圧や血中 BNP レベルと相関した。この結果により *Lionheart* がヒトにおいても保存されており、心不全に対して保護的な役割をしている可能性を示した。

以上の研究は心不全において保護的に作用する新規の長鎖非コード RNA の機能解明に貢献し心不全の病態や新たな治療ターゲットの探索に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和2年10月6日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日 以降