

心血管系老化における低分子量Gタンパク質の新たな作用機構

扇田久和

滋賀医科大学 分子病態生化学

【研究の背景】

超高齢社会を迎えた日本において、老化による心機能低下や血管疾患の発症は急増している。これらの疾患は生活の質の悪化や健康寿命の短縮に関連するだけでなく、寿命そのものを縮める原因にもなる。心血管の老化に関する研究はこれまでに多く行われてきた。しかし、その成果を活用した効果的な心血管老化の予防・阻止法はほとんど開発されておらず、新たな観点からのさらなる心血管系老化に関する研究が望まれている。

【目 的】

心臓や動脈などの血管は加齢と共にその機能が衰え、心不全や動脈硬化など様々な疾患の原因となる。しかし、それらの疾患発症の分子メカニズムについては不明点が多く残されている。RhoA を含む Rho ファミリー低分子量 G タンパク質は細胞内でアクチン線維の走行・方向性を調整するという重要な役割を有しているが、近年、それに加えて新たな機能が次々と見出されている。本研究では、RhoA およびその関連分子に着目して、老化による心血管系の機能低下が生じる分子メカニズムを明らかにすることを目的とする。

【方 法】

低分子量 G タンパク質 RhoA が心血管系老化とどのように関連するかを個体レベルで解析するため、遺伝子改変マウスを用いた。具体的には、Cre-loxP システムにより心筋特異的あるいは血管平滑筋特異的 RhoA コンディショナルノックアウト (cKO) マウスを作製した。これらの RhoA cKO マウスを長期間飼育し、老化による心臓および大動脈の機能異常を解析した。長期間飼育後には、心臓および大動脈を摘出し、ヘマトキシリン-エオジン染色、免疫組織染色などの組織染色を実施すると共に、これらの組織サンプルを用いた遺伝子解析、タンパク質解析、ミトコンドリアの構造・機能解析も行った。

【結 果】

1. 心筋特異的 RhoA cKO マウスは心筋の早期老化により心不全となり寿命が短縮

心筋特異的 RhoA cKO マウスは、コントロールマウスと比較して、有意に寿命が短く、20 週齢以降、心機能低下・心不全をきたした。心筋特異的 RhoA cKO マウスの心臓では、心筋細胞の走行が乱れて線維化が増加し、さらに、老化マーカー p16 や SA β -Gal の発現が有意に増加していた。電子顕微鏡を用いた解析では、ミトコンドリア形態の著明な異常が認められ、ミトコンドリア機能が衰えていた。その原因として、損傷を受けたミトコンドリアを処理する機構であるマイトファジーの機能不全が想定された。心筋のマイトファジーにはパーキンという分子が関わっているが、RhoA の発現が欠失することで、N-Myc の発現が増加し、その N-Myc がパーキンの転写発現を抑制していることを明らかにした。

次に、心筋特異的 RhoA cKO マウスの心筋に、アデノ随伴ウイルス(AAV)を用いてパーキンの発現を補充すると、そのマウスの心機能低下は抑制されて寿命は改善し、ミトコンドリア形態異常も軽減した。このことから、心筋での RhoA 発現欠失がパーキン発現低下を引き起こし、その結果、心筋マイトファジーが抑制され、形態異常を来し機能破綻したミトコンドリアが心

筋細胞内で増加することで、心機能低下・心不全から寿命短縮につながっているというメカニズムを解明することができた。

2. 血管平滑筋特異的 RhoA cKO マウスでは大動脈壁炎症亢進による腹部大動脈瘤の発生が増加

血管平滑筋特異的 RhoA cKO マウスでは 50 週齢以上の高齢になると、動脈血管異常の一つである腹部大動脈瘤 (AAA) の発生が認められた。また、アンジオテンシン II と β -アミノプロピオニトリルによる薬剤刺激でも、血管平滑筋特異的 RhoA cKO マウスでは、コントロールマウスと比較して有意に AAA 発症頻度が増加した。血管平滑筋特異的 RhoA cKO マウスから摘出した大動脈を用いた解析では、その大動脈は引っ張り圧力に対して脆弱であり、大動脈中膜での炎症が亢進していることが分かった。これらの原因として、RhoA の欠失により MAP4K4 の活性化が異常に上昇して Erk の活性化が促進され、Mmp2 の発現増加と Timp1 の発現低下が関わっていることを突き止めた。

さらに、MAP4K4 活性化阻害薬である DMX-5084 を血管平滑筋特異的 RhoA cKO マウスに投与すると、薬剤刺激下でも AAA の発症は抑制され、引っ張り圧力に対する大動脈の脆弱性も改善された。さらに、Erk の活性化も低下し、Mmp2 の発現増加や Timp1 の発現低下も是正された。

【考 察】

以上の結果より、RhoA は心筋や血管の老化を抑制する作用があり、その作用により心機能低下や心不全、AAA の発症といった致命的な疾患の発症を抑制していると考えられた。その分子機構は心筋と血管平滑筋において異なり、心筋 RhoA はパーキンの発現促進によるマイトファジーを介したミトコンドリアの機能維持を担っており、血管平滑筋の RhoA は MAP4K4 の活性制御により Erk の活性化を調節して大動脈中膜での炎症抑制、強度維持に関与していると示唆された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

老化による身体の機能低下をできる限り阻止する方策を見出すことは、医学的のみならず社会的にも重要な課題である。本研究により RhoA およびその関連分子が心血管系老化を抑制する分子メカニズムの一端を解明することができた。今後はこの成果を基盤として、例えば AAV などを活用して、RhoA そのものあるいは RhoA 活性化促進分子などを心血管系に効率的かつ安全に補充する方法を開発することができれば、心血管系老化による疾患の発症を抑制し、健康寿命延長への貢献が可能となる。

【参考・引用文献】

Soh JEC, Shimizu A, Sato A, Ogita H. Novel cardiovascular protective effects of RhoA signaling and its therapeutic implications. *Biochem Pharmacol.* 2023; 218:115899.