研究・調査報告書

分類番号		報告書番号	担当
B-780		20-258	元高崎健康福祉大学　八田愼一

題名（原題／訳）

Accelerated FASTK mRNA degradation induced by oxidative stress is responsible for the destroyed myocardial mitochondrial gene expression and respiratory function in alcoholic cardiomyopathy.
酸化ストレスで生じる Fas 活性化型セリンスレオニンキナーゼ（FASTK） mRNA 分解の加速がアルコール性心筋症での心筋ミトコンドリア遺伝子発現や呼吸機能の障害の原因である

執筆者

Zhang F, Wang K, Zhang S, Li J, Fan R, Chen X, Pei J.

掲載誌

Redox Biol. 2021; 38:101778. doi: 10.1016/j.redox.2020.101778.

キーワード	PMID:
アルコール性心筋症、FASTK、ミトコンドリア、レグナーゼ1（Regnase-1）mRNA 安定性、ROS	33197770

要　旨

目的：慢性のアルコール依存症は心筋ミトコンドリア（Mit）機能を障害し、しばしばアルコール性心筋症（ACM）を発症する。エタノール（EtOH）は Mit ゲノムでコードされるタンパク質を低下することから、EtOH は Mit 遺伝子発現を障害することが示唆されている。しかし、EtOH と Mit 遺伝子発現との分子的な関連性は不明である。Mit ゲノムの適切な発現には、転写後調節が重要であり、その過程の調節不良で Mit の機能不全と疾患が生じる。FASTK は Mit 遺伝子発現の転写後調節因子として働いている。しかし、心血管系の病態生理での FASTK の調節的役割は不明である。本研究は、ACM の発症に対する FASTK の関与について検討した。

方法：*In vivo* の実験には、FASTK 欠損（KO）マウスと対照（WT）マウスを、*in vitro* の実験には KO マウスと WT マウスから調製した心筋細胞および H9C2 細胞（ラット心臓由来筋芽細胞）を用いた。ACM モデルマウスは、EtOH Lieber-DeCarli 液体飼料を 8 週間投与して作成した。処置後、マウスの心臓機能を評価し、心臓と血液を採取して解析を行った。心臓機能は超音波心臓検査で、アポトーシスは TUNEL 法で、NADPH 酸化酵素活性は化学蛍光発光法で、細胞内 ROS レベルは DCFH-DA を使用して測定した。Mit 酸素消費は Seahorse XF24 細胞外フラックスアナライザーで、タンパク質と mRNA の会合はビオチンプルダウンアッセイで解析した。mRNA は RT-PCR 法で、タンパク質はウエスタンブロット法で測定した。心筋細胞特異的な FASTK の発現増加は、AAV9-cTNT-FASTK の心筋内投与によって行った。

結果：ACM モデルで、心臓 FASTK 発現は大きく減少した。EtOH は、NADPH 酸化酵素由来の ROS を介して、FASTK 発現を転写後のレベルで直接抑制した。EtOH は、FASTK の mRNA 3’非翻訳領域を不安定化し、その崩壊を促進したが、この EtOH の影響は ROS の消去で遮断された。心筋細胞で、EtOH 刺激で増加した ROS 産生を介して、レグナーゼ1（Reg1）［mRNA の安定化を調節しているリボヌクレアーゼ］発現が誘導された。Reg1 は FASTK の mRNA 3’非翻訳領域に直接結合し、その崩壊を促進した。一方、Reg1 の発現抑制で EtOH による FASTK の発現低下は回復した。対照と比較して、アルコールに関連した心筋心筋の形態異常（肥大、線維化、心筋細胞アポトーシス）と機能異常（駆出率の低下、心筋細胞収縮不全）は KO マウスで悪化した。FASTK 欠損は、NADH 脱水素酵素サブユニット 6（MTND6、複合体 I をコードする Mit 遺伝子）mRNA 産生を抑制し、複合体 I 関与呼吸を低下させた。心筋細胞特異的な FASTK の発現増加で、心筋 Mit 機能不全は軽減し、ACM の進展は抑制された。*In vitro* 実験で FASTK の過剰発現は、EtOH による MTND6 mRNA の発現低下や複合体 I の不活性化、心筋細胞死を改善した。一方、これらの改善効果はロテノン（複合体 I 阻害剤）の処置で拮抗された。

結論：本研究の結果は、Reg1 を介した ROS 促進性 FASTK mRNA 分解が、慢性 EtOH 摂取に関連した Mit 機能不全と心筋症に関与していること示唆している。遺伝学的手技による FASTK 発現の回復は、ACM の治療戦略として有効であると考えられる。