

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 10 月 18 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16756

研究課題名(和文) 妊娠高血圧症を合併した周産期心筋症における胎盤由来バイオマーカーの解析

研究課題名(英文) Analysis for biomarkers derived from placenta in postpartum cardiomyopathy with preeclampsia

研究代表者

清水 峻志 (Shimizu, Takashi)

東京大学・医学部附属病院・登録研究員

研究者番号：00792061

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠高血圧症を合併した周産期心筋症患者及び健常産褥婦由来の血液検体中のsmall RNAをマイクロアレイにより網羅的に解析した。患者群ではmiR-320a/bの発現が特異的に亢進していた。miR-320a/bの標的遺伝子として、EIF2ak3(PERK)を特定した。次に、心筋特異的PERKノックアウトマウスに妊娠・出産を繰り返させたところ、周産期心筋症に類似した病態を示した。RNA-sequencing及びパスウェイ解析にてPERKは、心保護的に作用する様々な分子シグナリングを制御することが分かった。以上より、miR-320a/bは診断的バイオマーカー及び治療標的として有望であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、既知の周産期心筋症のバイオマーカーである切断プロラクチンが血中に発現していない症例、及び既存の周産期心筋症治療薬であるプロモクリプチン不応例が多数報告されている。本研究成果で同定したmiR-320a/bは、切断プロラクチンの有無にかかわらず、新規診断的バイオマーカー及び治療標的として有望であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We conducted small RNA microarray for the sera of postpartum cardiomyopathy (PPCM) patients with preeclampsia (PE), or healthy controls. We identified miR-320a/b as disease-specific miRNAs. We searched the target genes for miR-320a/b. Then, we picked up EIF2ak3 (PERK). Next, we examined the phenotype of control mice and tissue-specific PERK homogenous knockout (HKO) mice during the perinatal period and performed transcriptome analysis and pathway analysis. Cardiac-specific PERK deletion revealed PPCM phenotype. In the hearts of HKO mice, unfolded protein response, EIF2 signaling, NRF2 signaling, prolactin signaling, α -adrenergic signaling, NFAT-induced immune response, and angiogenesis were downregulated, while necroptosis, fatty acid oxidation, glycolysis, and hypoxia signaling were upregulated. These results demonstrate that miR-320a/b-mediated PERK suppression plays a key role in pathophysiology of PPCM. MiR-320a/b could serve as a biomarker and therapeutic target for PPCM with PE.

研究分野：循環器内科学

キーワード：周産期心筋症

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

周産期心筋症とは、妊娠中または妊娠終了後 5 ヶ月以内に新たに心不全が出現した疾患であり、母児の生命を脅かす難治性疾患である。とりわけ、妊娠関連高血圧症を合併した周産期心筋症(以下、高血圧性周産期心筋症)の予後は不良である。このような症例では、下垂体から放出されるプロラクチンを標的とした、抗プロラクチン療法(プロモクリプチン内服)では十分な治療効果を得られないことが報告されており、新規治療薬の開発が望まれている。高血圧性周産期心筋症では、胎盤から放出されるタンパク質(soluble Flt1 など)が母体血中を経て、母体心臓に悪影響を及ぼすと考えられているが、このようなバイオマーカーとなり得る物質に関する網羅的な解析は十分に行われていない。近年、妊娠関連高血圧症などの周産期疾患において、胎盤栄養膜細胞(trophoblast)由来の RNA が、タンパク質とは異なる機序で、母体血中に顕著に移行することが報告された。trophoblast には高濃度(他の成体臓器の 100 倍前後)の micro RNA が集積しており、低酸素負荷が加わると、一部の micro RNA は母体に移行し、臓器不全を起こすことも報告されている。microRNA とは 21-25 塩基長の 1 本鎖 RNA 分子であり真核生物において遺伝子の転写後発現調節に関与する。一般に標的遺伝子の 3'UTR を認識して、標的 mRNA を不安定化するとともに翻訳抑制を行うことでタンパク質産生を抑制する。

本研究課題の核心をなす学術的「問い」として、直接心筋障害を引き起こす trophoblast 由来の物質(micro RNA など)及び、その micro RNA が標的とする心臓で発現している遺伝子が何か、という点である。

2. 研究の目的

周産期心筋症は、極めて希少な疾患(日本では 50-100 人/年)であり、今までヒトの症例及び検体を集積することが困難であった。そのため、周産期心筋症のバイオマーカーの探索及び創薬に至ることができていなかった。国立循環器病研究センターが中心となって、私達はわが国で初の、周産期心筋症に対する前向き臨床調査研究を実施し、登録症例検体(母体血清・母体心筋検体)を 100 例前後集積した。これらの検体を用いて、今までできなかった、周産期心筋症のバイオマーカーの探索を行うことができる点に本研究の学術的独自性がある。集積した検体を解析し、創薬に繋がる、高血圧性周産期心筋症のバイオマーカーを探索すること(とりわけ、母体血中で発現が亢進している micro RNA を探索すること)を第一の目的とした。次に、探索したバイオマーカー(micro RNA)によって、心筋障害を引き起こす分子メカニズムを基礎実験で確認することを第二の目的とした。さらに、この micro RNA の標的遺伝子を解明することを第三の目的とした。そして、標的遺伝子を心臓特異的にノックアウトしたマウスを入手し、妊娠・出産を繰り返させた場合に、ヒトの周産期心筋症に似た病態になるか検討することを第四の目的とした。

3. 研究の方法

妊娠高血圧症を合併した周産期心筋症患者及び健常産褥婦由来の血液検体中の small RNA をマイクロアレイにより網羅的に解析を行った。疾患特異的に発現している miR-320a/b の標的遺伝子の標的遺伝子をトランスクリプトーム解析及び miRNA 標的遺伝子解析ソフト TargetScan7.0 を用いて解析した。標的遺伝子の一つである PERK の役割を解明するため、心筋特異的 PERK ノックアウトマウスを作製した。このマウスに妊娠・出産を繰り返させることとした。さらに、このマウスに抗プロラクチン療法を行い、薬理効果を判定することとした。

4. 研究成果

高血圧性周産期心筋症の新規バイオマーカーとして、miR-320a/b を同定した。そして、miR-320a/b の標的遺伝子として PERK を同定した(論文投稿準備中)。さらに、心筋特異的 PERK ノックアウトマウスを用いて、周産期にヒトの周産期心筋症に似た病態を示すことを明らかにした(Scientific Reports, 2021)。すなわち、周産期の心機能低下、心拡大傾向、生命予後悪化を認めた。また、心筋特異的 PERK ノックアウトマウスでは JAK/STAT シグナリングの抑制、及びアポトーシスの亢進を認めた。さらに、心筋特異的 PERK ノックアウトマウスでは周産期心筋症の治療候補薬であるプロモクリプチンを投与しても、周産期の心保護作用を認めなかった。

以上より、妊娠高血圧症を合併するようなストレスを伴う妊娠・出産においては、miR-320a/b-PERK シグナリングは既存の抗プロラクチン療法とは異なる分子機序で周産期心筋症に関与していることが示唆された。

miR-320a/b-PERK シグナリングは高血圧性周産期心筋症の診断的バイオマーカー

ー及び治療標的として有望であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shimizu Takashi, Taguchi Akashi, Higashijima Yoshiki, Kanki Yasuharu, Nakaki Ryo, Urade Yoshihiro, Wada Youichiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Inhibition of cardiac PERK signaling promotes peripartum cardiac dysfunction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18687
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-98344-7	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Takashi Shimizu, Eiki Takimoto, Chizuko A. Kamiya, Jun Yoshimatsu, Atsunori Kamiya, Tomoaki Ikeda, Issei Komuro
2. 発表標題 miR-224-5p is a New Biomarker and Therapeutic Target for Peripartum Cardiomyopathy With Preeclampsia, Irrespective of 16 kDa Prolactin
3. 学会等名 米国心臓病学会（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------