

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16131

研究課題名（和文）RNA motionによる細胞間相互作用の時空間的理解への挑戦

研究課題名（英文）Challenges to spatiotemporal understanding of cell-cell interactions by RNA motion

研究代表者

加藤 愛巳（Kato, Manami）

東京大学・医学部附属病院循環器内科・特任助教

研究者番号：60832045

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：圧負荷モデルマウスの心筋細胞single cell RNA-seqのデータを統合し解析を行った。時系列のsingle cell データを用いることで、実際の時間の流れに沿った、実際の変化を観察することができた。圧負荷1週から2週の間では、OXPHOS関連の遺伝子群が、著明に上昇していた。更に、圧負荷2週から4週の間では、抗酸化ストレス関連の遺伝子群が、著明に上昇していた。このことから、圧負荷開始後は、OXPHOSをこれまで以上に亢進させ、心収縮力を保とうとするも、それが持続すると、ROSが蓄積し、酸化ストレス応答が生じることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心不全は未だ予後不良の疾患であり、患者数も増加の一途を辿っている。病態が非常に複雑で多因子疾患であるため、根本的な治療法は見つかっていない。この状況において、心不全の病態解明は喫緊の課題であり、新規心不全病態制御因子の発見が待たれている。本研究は、心不全モデルマウスを用いて、心不全の進行による遺伝子発現の変化を時系列で追い、病態変化の過程を詳細に検証した。その結果、心不全進行の過程では、前期は酸化的リン酸化が亢進し、後半で抗酸化応答が生じていた。ヒト心不全患者の過程に当てはめると、前半が代償期で後半が非代償期であると考えられる。この病態過程を意識した治療が有効な新規治療につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The data from single cell RNA-seq of cardiomyocytes from pressure-loaded mouse models were integrated and analysed. The use of time-series single cell data allowed us to observe real changes over time. Between 1 and 2 weeks of pressure loading, the OXPHOS-related gene cluster was markedly elevated. Furthermore, between 2 and 4 weeks of pressure loading, there was a marked increase in the genes related to antioxidant stress. This indicates that after the onset of pressure overload, the OXPHOS is more hyper-activated than ever before in an attempt to maintain cardiac contractility, but if this is sustained, ROS accumulate and an oxidative stress response occurs.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心不全 酸化的リン酸化 抗酸化作用 単一細胞解析

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

全ての生命現象は、細胞間相互作用なくしては、成立しない。どの細胞も必ず、周りの細胞から影響を受けており、また影響を与えている。私のこれまでの研究対象である心臓においては、心筋細胞の周りに、内皮細胞、線維芽細胞、免疫系細胞(主にマクロファージ)等、さまざまな細胞が存在している。心筋細胞を単離して解析することは勿論重要だが、それだけを解析しても、細胞間相互作用を含む、多細胞によるシステムとしての生命現象は、見えてこない。複雑な細胞間相互作用を視覚化し、より理解を深めるためには、新たな解析法による探究が必要である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、多細胞の single cell 遺伝子発現パターンを4次元で表現する RNA motion の開発とそれによる心不全の新規病態の発見である。RNA motion とは、時系列で得られた同一臓器内の多細胞 single cell の RNA-seq のデータを、同一空間上に表現し、細胞間相互作用を理解することである。それによって、新しい視点から、これまで不明であった新規の心不全の病態解明に迫る。

3. 研究の方法

心不全の進行に伴う、遺伝子発現の変化と細胞間相互作用を捉えるために、下記の実験を計画した。圧負荷心不全モデルマウスを用いて、時系列の single cell データを解析し、pseudotime ではなく、実際の時間の流れに沿った、病態の変化を検証する。また、同じマウスから同時に、非心筋細胞の single cell データも解析し、検証した。

4. 研究成果

心筋細胞の、時系列データでは、圧負荷1週から2週の間では、pathway 解析の結果、OXPHOS 関連の遺伝子群が、著明に上昇していた。更に、圧負荷2週から4週の間では、pathway 解析の結果、抗酸化ストレス関連の遺伝子群が、著明に上昇していた。このことから、圧負荷開始後は、OXPHOS をこれまで以上に亢進させ、心収縮力を保とうとするも、それが持続すると、ROS が蓄積し、酸化ストレス応答が引き起こされるようになったと考える。このことは、大動脈弁狭窄症が慢性的に進行する過程あるいは高血圧性心不全が進行する過程で心筋細胞に起きている変化と共通している可能性があると考えられた。また、非心筋細胞において、老化した内皮細胞が分泌する、SASP が心筋細胞における OXPHOS を阻害することも突き止めた。心不全患者では、ミトコンドリアが膨化し、クリステの構造が壊れることが知られているが、本研究において見出された、圧負荷によってミトコンドリアにおける OXPHOS の持続的かつ過剰な亢進によって、ROS が大量発生し、抗酸化ストレス応答が起きるといった結果が、心不全患者におけるミトコンドリアダメージの原因の一つとして、関連している可能性が考えられた。本研究で判明した病態に基づき、新規治療法として、心不全ワクチンを開発した。前述した SASP に対するワクチンを圧負荷心不全モデルマウスに投与し、SASP に対する抗体を産生させたところ、その中和作用により、心機能が改善した。この新規治療法開発という成果は、本研究における心筋細胞の時系列における遺伝子発現変化と非心筋細胞による細胞間相互作用の統合解析なくしては成し得なかったと考えられる。本研究成果は、circulation(in press)で報告することとなった。本研究では、数理モデルの開発の難渋し、RNA motion の完成には至らなかったが、その試行錯誤の過程で、さまざまな病態検証を行うことができ、多くの有用な知見得られた。それが細胞間相互作用の観点か

ら開発された新規治療法という成果に繋がったと考える。今後は、心筋細胞と非心筋細胞におけるデータを、経時的变化と関連づけて、更に解析を進め、新規心不全治療薬開発に繋がりたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Manami Katoh	4. 巻 -
2. 論文標題 Vaccine therapy for heart failure targeting the inflammatory cytokine lgfbp7	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 circulation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Katoh Manami, Ko Toshiyuki, Katagiri Mikako, Yamada Shintaro, Ito Masamichi, Komuro Issei	4. 巻 2
2. 論文標題 How Can We Survive the Heart Failure Pandemic Era? Basic Research for Understanding the Pathophysiology of Heart Failure and Development of Novel Therapies	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Asian Pacific Society of Cardiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15420/japsc.2022.37	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	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 Manami Katoh
2. 発表標題 Vaccine therapy for heart failure targeting the inflammatory cytokine
3. 学会等名 Keystone symposia（国際学会）
4. 発表年 2023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
---------	---------