

令和 4 年 5 月 29 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18187

研究課題名(和文)細胞骨格関連蛋白質Fhod3から見た補助人工心臓治療後の左室リモデリング効果

研究課題名(英文) Post-VAD implant cardiac remodeling: molecular biological analysis focusing on Fhod3, cytoskeleton-related protein

研究代表者

牛島 智基 (Ushijima, Tomoki)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：70529875

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：サルコメア関連蛋白質(Fhod3, cMYBP-C, -MHC, actin)、心不全・心肥大関連シグナル因子(ANP, BNP, Ark, Akt)、核移行関連因子(SRF, MRTF)、Ca handling関連因子(Serca2, Phospholamban)、ミトコンドリア代謝関連因子(TFAM)、線維化関連マーカー(Periostin, Collagen)について、免疫染色、蛋白質定量評価、mRNA定量評価を行った。各因子について個体間・異時的な差異に臨床データとの相関関係を見出すに至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、分子生物学的視点から、補助人工心臓治療の治療効果を判定するための有用な知見は得られなかった。より多くの症例数での解析で、新たな結果を導くことがきるかもしれない。今後も心筋細胞レベルで心不全治療の効果を判定する試みは重要であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Sarcomere-associated proteins (Fhod3, cMYBP-C, -MHC, actin), cardiac hypertrophy-related factors (ANP, BNP, Ark, Akt), nuclear transfer-associated pathway (SRF/MRTF), Ca handling-related factors (Serca2, Phospholamban), mitochondrial metabolism-related factors (TFAM) and fibrosis-related factors (Periostin, Collagen) were evaluated quantitatively and qualitatively by immunostaining, mRNA analysis with real-time PCR, immunoblotting. There was no significant and notable difference between the individuals. No correlation between the expression level of these factors and the clinical data was found.

研究分野：心不全

キーワード：心不全 心筋症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

重症心不全治療において、補助人工心臓の果たす役割は大きく、その治療効果は疑いのないものである。しかし、その治療効果判定には、機能面に焦点をあてたものが主であり、直接的に心筋細胞レベルで治療効果を判定した研究はこれまでほとんどない。また、補助人工心臓治療が心機能を回復させるものの、その際に心筋細胞レベルにどのような影響しているかについても十分に解明されていない。

細胞骨格関連蛋白質の1つである Fhod3 は、ヒト肥大型心筋症や拡張型心筋症との関連が報告されているものの、ヒト心筋において Fhod3 が果たしている役割を明らかにした報告はほとんどない。一方で、過去に当研究室ではマウス Fhod3 が心負荷条件下で心保護作用として機能することを明らかにした。しかし、Fhod3 の発現量と心不全の程度との関連性を示すには至っていない。

そこで、補助人工心臓治療の前後もしくは経時的な Fhod3 の発現量を知ることで、その治療効果を評価することができるのではないかとこの着想に至った。また、ヒト心筋における Fhod3 の機能解析を行うことは、心不全の病態把握や治療効果判定に有用な知見をもたらす、将来の新たな抗心不全薬やバイオマーカーの開発につながるものとなる可能性があると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、重症心不全に対する補助人工心臓治療の治療効果を分子生物学的視点から評価することである。Fhod3 は、ヒト心筋で分子生物学的に解析された研究はほとんどなく、Fhod3 のヒト心筋における機能を知ることは、心不全の病態把握について新たな知見をもたらす可能性がある。

我々は、当施設における先行研究により、同一個体かつ異時的に採取された心筋サンプルを有している。これらを用いることで、単回手術にとどまらず、治療効果判定に必要な時間経過を考慮しての解析を行うことが可能である点が、本研究の独自性である。

3. 研究の方法

(1) 分子生物学的解析

過去に採取した心筋サンプルおよび新規に採取するヒト心筋サンプルを対象とし、当施設で実施した先行研究プロトコルに従って、凍結保存処理を行う。凍結保存したヒト心筋サンプルから、ウエスタンブロット法による蛋白質レベルでの発現解析、real-time PCR 法による mRNA レベルでの発現解析、免疫染色による細胞内局在レベルでの解析を行う。これらの分子生物学的手法はマウス心筋における発現解析の方法を踏襲する。

解析を行う因子は以下の通りである。サルコメア関連蛋白質 (Fhod3、cMyBP-C、 α -MHC、Fhod1、Actin)、心不全・心肥大関連シグナル因子 (ANP、BNP、Ark、Akt)、核移行関連因子 (SRF、MRTF)、Ca handling 関連因子 (Serca2、Phospholamban)、ミトコンドリア代謝関連因子 (TFAM)、線維化関連マーカー (Periostin、Collagen)。これらを、ウエスタンブロット法または real-time PCR 法により検出・定量するとともに、Fhod3 の発現との関連性を解析する。

(2) 臨床データと分子生物学的マーカーとの相関関係の解析

臨床データを取得し、各種分子生物学的マーカーの発現との相関関係を統計学的に解析する。

4. 研究成果

(1) 分子生物学的解析結果は以下の通りであった。

・サルコメア関連蛋白質

Fhod3、cMYBP-C、 α -MHC、Actin は、免疫染色では既知の如くサルコメア内に特徴的な配列で局在したが、mRNA レベル・蛋白質レベルでの発現量に有意な差異を認めなかった。一方で、Fhod1 は、心筋における発現を認めなかった。

・心不全・心肥大関連シグナル因子

ANP、BNP は、mRNA レベルでの発現に個体間での差異を認めるも、臨床的な相関を認めなかった。

Ark、Akt は、蛋白質レベルでの発現量に有意な差異を認めなかった。

・核移行シグナル因子

SRF、MRTF は、免疫染色で細胞内局在を検出できず、蛋白質レベルでの発現も検出精度が低く、評価不能であった。

・ Ca handling 関連因子、ミトコンドリア代謝関連因子

Serca2、Phospholamban、TFAM は、mRNA レベルでの発現に個体間での差異を認めなかった。

・ 線維化関連マーカー

Periostin、Collagen は、個体間での差異を認めたが、この差異は心不全もしくは病態の結果であり、現在の心不全の状態を反映しているものではないと判断した。

(2) 臨床データとの相関関係

これらの結果をもとに臨床データとの解析を行うも、原疾患、治療期間、心機能に関して、相関関係を見いだせなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------