

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20942

研究課題名(和文) 質量分析法を用いた心不全の新規診断マーカーの同定

研究課題名(英文) Proteomic analysis of the failing human heart by mass spectrometry

## 研究代表者

堂本 裕加子(新谷裕加子)(Domoto, Yukako)

東京大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：30596961

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：左室補助人工心臓(LVAD)は心不全患者装着され、一部の患者は心機能を回復し離脱するが、多くの患者が心臓移植待ちの状態となる。このLVAD装着により左室心筋の蛋白質にどのような変化が生じているかを網羅的に解析するために、液体クロマトグラフィー質量分析法を用いて、心筋組織の蛋白質の相対定量を行った。各サンプルあたり1000以上の蛋白質が検出されたが、左室拡張期径や心駆出率の改善値と関連した蛋白質にはミトコンドリア関連蛋白質が多くみられた。現在は、LVAD離脱群と心臓移植群との比較検討を進めている。

研究成果の概要(英文)：A left ventricular assist device (LVAD) is used for patients with heart failure as a bridge to heart transplantation. To reveal the molecular markers that are associated with an improvement of cardiac function and myocardial remodeling, the myocardial tissue from patients with heart failure was analyzed with liquid-chromatography mass spectrometry. As the first step to gain the candidates of prognostic markers, we tried finding the myocardial proteins in which change was observed following LVAD support. For each patient, we quantified at least 1,000 different kinds of protein in this study. This proteomics approach suggests that mitochondrial proteins are convincing markers to characterize the molecular changes in myocardium during the course of LVAD support.

研究分野：心臓血管病理、腎病理

キーワード：心臓 プロテオミクス

#### 1. 研究開始当初の背景

重症心不全では、心臓移植までの待機として左室補助人工心臓 (LVAD) が装着される。LVAD 装着により、心負荷が改善されるが、この過程で心筋に生じる分子的变化は十分に明らかになっていない。

#### 2. 研究の目的

LVAD 装着時の心尖部心筋の線維化が、LVAD 装着後の予後と関連することが報告されており、LVAD 装着時の線維化と関連のある蛋白が、予後予測因子となり得ると考えられている。本研究では、液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC-MS) を用いて、心筋組織の蛋白量を LVAD 装着前後で比較定量し、経時的なタンパク質発現量の変化を見出すことを目的とする。

#### 3. 研究の方法

当院で、2014年6月までに心臓移植を行われた症例 49 例のうち、LVAD 装着も当院で行われ、病理に心尖部心筋組織の提出された症例 28 例を対象とした。

移植時摘出心の左室自由壁検体と LVAD 装着時の心尖部切除検体の心筋部をマクロダイセクションにて回収後、トリプシン消化したペプチド産物に対して、同位体ラベルを付加し、LC-MS によって網羅的なタンパク質の同定と定量を行った。

各タンパク質について移植時の、LVAD 装着時の発現量に対する比を算出した。28 症例中 23 症例以上について、LVAD 装着前後での発現量比を定量することができたタンパク質のみを解析対象とし、LVAD 装着時の線維化率あるいは LVAD 装着による左室拡張末期径 (LVd) 改善値との相関を、Spearman の順位相関係数を用いて算出した。

LVAD 装着時の線維化率については、LVAD 装着時の心筋組織の AZAN 染色画像を NanoZoomer で取り込み、10 倍視野で 5 ヶ所を選択、Image J software を用いて線維化領域と心筋領域を計測し、線維化率を算出した。

線維化率は 2.6% から 55.6% (平均 23.3%) であった。

#### 4. 研究成果

1. ミトコンドリア関連蛋白は LVAD 装着時の線維化率が高い症例ほど、増加し、LVd 改善値の大きい症例ほど、減少していた。

2. ミトコンドリア関連蛋白のうち、mitochondrial respiration activity の制御や加齢に重要な役割を果たすタンパク質が LVd 改善率と強い負の相関がみられた。

3. LVAD 装着時の線維化率が低い症例ほど、細胞外マトリックスが著明に増加していたが、線維化率の高い症例では、細胞外マトリックスの増加が少なかった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 22 件)

1. Different desmin peptides are distinctly deposited in cytoplasmic aggregations and cytoplasm of desmin-related cardiomyopathy patients. Shintani-Domoto Y, Hayasaka T, Maeda D, Masaki N, Ito TK, Sakuma K, Tanaka M, Kabashima K, Takei S, Setou M, Fukayama M. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2017 Mar 21. pii: S1570-9639(17)30048-1.

2. Laminar crystal deposition in large vessels in a patient with crystalglobulinemia.

Shintani-Domoto Y, Shinozaki-Ushiku A, Okuma H, Kurokawa M, Fukayama M. *Pathology International*. 2017 May; 67(5): 269-272.

3. Comparison of volume and attenuation of the spleen between postmortem and antemortem computed tomography. Okuma H, Gonoi W, Ishida M, Shirota G, Kanno S,

- Shintani Y, Abe H, Fukayama M, Ohtomo K. Int J Legal Med. 2016 Jul;130(4):1081-7
4. Increased CXCR3 Expression of Infiltrating Plasma Cells in Hunner Type Interstitial Cystitis. Akiyama Y, Morikawa T, Maeda D, Shintani Y, Niimi A, Nomiya A, Nakayama A, Igawa Y, Fukayama M, Homma Y. Sci Rep. 2016 Jun 24;6:28652.
5. Phenotypic differences in aortic stenosis according to calcification grade. Takata M, Amiya E, Watanabe M, Shintani Y, Sakuma K, Saito A, Fukayama M, Ono M, Komuro I. Int J Cardiol. 2016 Aug 1;216:118-20.
6. Fukutin gene mutations that cause left ventricular noncompaction. Amiya E, Morita H, Hatano M, Nitta D, Hosoya Y, Maki H, Motozawa Y, Sato N, Ishiura H, Numakura S, Shintani Y, Kinugawa K, Takeda N, Shimizu J, Tsuji S, Komuro I. Int J Cardiol. 2016 Nov 1;222:727-9.
7. Can postmortem computed tomography detect antemortem hypoxic-ischemic encephalopathy? Shiota G, Ishida M, Shintani Y, Abe H, Ikemura M, Fukayama M, Gono W. Forensic Sci Med Pathol. 2016 Sep;12(3):267-75.
8. Comparison of the cardiothoracic ratio between postmortem and antemortem computed tomography. Okuma H, Gono W, Ishida M, Shiota G, Kanno S, Shintani Y, Abe H, Fukayama M, Ohtomo K. Leg Med (Tokyo). 2017 Jan;24:86-91.
9. Implantation of a Left Ventricular Assist Device for Danon cardiomyopathy. Kitahara H, Nawata K, Kinoshita O, Itoda Y, Shintani Y, Fukayama M, Ono M. Ann Thorac Surg. 2017 Jan;103(1):e39-e41.
10. Increased CXCR3 Expression of Infiltrating Plasma Cells in Hunner Type Interstitial Cystitis. Akiyama Y, Morikawa T, Maeda D, Shintani Y, Niimi A, Nomiya A, Nakayama A, Igawa Y, Fukayama M, Homma Y. Sci Rep. 2016 Jun 24;6:28652.
11. Comparison of volume and attenuation of the spleen between postmortem and antemortem computed tomography. Okuma H, Gono W, Ishida M, Shiota G, Kanno S, Shintani Y, Abe H, Fukayama M, Ohtomo K. Int J Legal Med. 2016 Jul;130(4):1081-7.
12. Phenotypic differences in aortic stenosis according to calcification grade. Takata M, Amiya E, Watanabe M, Shintani Y, Sakuma K, Saito A, Fukayama M, Ono M, Komuro I. Int J Cardiol. 2016 Aug 1;216:118-20.
13. Can postmortem computed tomography detect antemortem hypoxic-ischemic encephalopathy? Shiota G, Ishida M, Shintani Y, Abe H, Ikemura M, Fukayama M, Gono W. Forensic Sci Med Pathol. 2016 Sep;12(3):267-75.
14. Fukutin gene mutations that cause left ventricular noncompaction. Amiya E, Morita H, Hatano M, Nitta D, Hosoya Y, Maki H, Motozawa Y, Sato N, Ishiura H, Numakura S, Shintani Y, Kinugawa K, Takeda N, Shimizu J, Tsuji S, Komuro I. Int J Cardiol. 2016 Nov 1;222:727-9.
15. The reduced expression of proximal tubular transporters in acquired Fanconi syndrome with light chain deposition. Tojo A, Asaba K, Kinugasa S, Ikeda Y, Shintani Y, Fukayama M, Nangaku M. Medical Molecular Morphology. 2016 Mar;49(1):48-52.
16. Umbilical Cord Blood Transplantation-associated Nephrotic Syndrome Successfully Treated by Low-density Lipoprotein Apheresis. Sugawara Y, Honda K, Katagiri D, Nakamura

M, Kawakami T, Nasu R, Hayashi A, Shintani Y, Tojo A, Noiri E, Kurokawa M, Fukayama M, Nangaku M. Intern Med.

2016;55(19):2831-2836.

17. Early postmortem volume reduction of adrenal gland: initial longitudinal computed tomographic study. Radiol Med. Ishida M, Gonoi W, Hagiwara K, Okuma H, Shiota G, Shintani Y, Abe H, Takazawa Y, Fukayama M, Ohtomo K. 2015 Jul 120(7): 662-9.

18. Common Postmortem Computed Tomography Findings Following Atraumatic Death: Differentiation between Normal Postmortem Changes and Pathologic Lesions. Ishida M, Gonoi W, Okuma H, Shiota G, Shintani Y, Abe H, Takazawa Y, Fukayama M, Ohtomo K. Korean J Radiol. 2015 16(4): 798-809

19. Elevated Serum IgG4 Complicated by Pericardial Involvement with a Patchy 18F-FDG Uptake in PET/CT: Atypical Presentation of IgG4-related Disease. Matsumiya R, Hosono O, Yoshikawa N, Uehara M, Kobayashi H, Oda A, Matsubara E, Tanada S, Shintani Y, Nagayama K, Nakajima J, Tanaka H. Internal medicine. 2015 54(18):2337-41

20. Phospholipase A2 receptor positive membranous nephropathy long after living donor kidney transplantation between identical twins. Saito H, Hamasaki Y, Tojo A, Shintani Y, Shimizu A, Nangaku M. Nephrology. 2015 Jul Suppl21:101-104

21. Brain Swelling and Loss of Gray and White Matter Differentiation in Human Postmortem Cases by Computed Tomography. Shiota G, Gonoi W, Ishida M, Okuma H, Shintani Y, Abe H, Takazawa Y, Ikemura M, Fukayama M, Ohtomo K. PLoS One. 2015 Oct 10(11) e0143848

22. Congenital Contractural

Arachnodactyly without FBN1 or FBN2 Gene Mutations Complicated by Dilated

Cardiomyopathy. Yagi H, Hatano M, Takeda N, Harada S, Suzuki Y, Taniguchi Y, Shintani Y, Morita H, Kanamori N, Aoyama T, Watanabe M, Manabe I, Akazawa H, Kinugawa K, Komuro I.

Internal medicine. 2015 54(10) 1237-41

〔学会発表〕(計2件)

1. poster presentation ; 新谷裕加子他  
「左室補助人工心臓装着前後の心筋蛋白の質量分析」日本病理学会, 2016年5月12-14日, 仙台国際センター(宮城県・仙台市)

2. Oral presentation ; Yukako Shintani 他  
「Proteomic analysis of the failing human heart after left ventricular assist device support」International Society for Rotary Blood Pumps 2016年9月20-22日, Hotel Lake View Mito (茨城県・水戸市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

堂本裕加子（新谷裕加子）(DOMOTO, Yukako)

東京大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：30596961

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

### (3)連携研究者

( )

研究者番号：

### (4)研究協力者

( )