

令和 4 年 6 月 19 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08547

研究課題名(和文)サルコメア蛋白遺伝子のエピゲノム異常に着目した拡張型心筋症の病因解明

研究課題名(英文)Epigenome alternations of sarcomeric genes in human dilated cardiomyopathy

研究代表者

佐藤 衛 (Sato, Mamoru)

岩手医科大学・医歯薬総合研究所・客員教授

研究者番号：90305996

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)：本研究では、孤発性拡張型心筋症(DCM)でのサルコメア蛋白遺伝子群の後天的遺伝子制御異常としてエピジェネティクス異常に着目し、DCMでのサルコメア蛋白遺伝子群のDNAメチル化解析を行い、DCMに特異的なDNAメチル部位を明らかにする。これまでに、研究への同意を得られた孤発性DCM群50例および対照群50例を対象した。10箇所の代表的なサルコメア蛋白遺伝子のDNAメチル化部位について解析したが、DCMに特異的なDNAメチル化部位を同定には至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、孤発性拡張型心筋症(DCM)でのサルコメア蛋白遺伝子異常、特に、DNAメチル化解析に着目して検討した。10箇所の代表的なサルコメア蛋白遺伝子のDNAメチル化部位について解析したが、DCMに特異的なDNAメチル化部位を同定には至らなかった。しかし、本研究の学術的意義として心筋生検組織を用いたDNAメチル化解析の方法論を確立が挙げられる。

研究成果の概要(英文)：This study has investigated epigenome alternations of sarcomeric genes in human dilated cardiomyopathy (DCM). This study included 50 patients with DCM and 50 control subjects. Genome DNA was taken from endomyocardial biopsy samples obtained from patients with DCM and controls. Ten DNA methylation sites of sarcomeric genes were analyzed using PyroMark system. There was no significant differences in DNA methylation between patients with DCM and controls. This study has established the methodology of epigenome alternations of sarcomeric genes in human DCM.

研究分野：循環器内科

キーワード：拡張型心筋症 サルコメア遺伝子 DNAメチル化

## 1. 研究開始当初の背景

### 拡張型心筋症(DCM)について

DCMは、「原因不明の心筋疾患」と定義され、難治性心筋疾患の一つである。特に、若年発症例は、予後が極めて悪く、心臓移植しか根本的治療法がなく、その発症メカニズムの解明は急務である。ウイルス、アルコール、毒物、免疫障害など非遺伝的因子によってDCM様形態を呈することは知られているが、DCMの原因は不明で“特異性”拡張型心筋症と呼ばれている。近年、サルコメア蛋白遺伝子異常が、家族性DCMの原因遺伝子として報告されている(N Engl J Med 2000)。しかし、DCMでのエピジェネティクス異常は不明である。

### エピジェネティクス異常

環境因子および古典的危険因子による後天的遺伝子修飾には、さまざまな遺伝子に対するDNAのメチル化およびヒストンアセチル化・リン酸化などエピゲノム制御異常が報告されている(Nature Rev. Genetics 12,529, 2011)。さらに、これらのエピゲノム制御異常と様々な心血管疾患の発症との関連が報告されている(Nature Rev. Genetics 2010)。すなわち、DCMでのサルコメア蛋白遺伝子のエピジェネティクス制御異常が、その発症に関与する可能性が推測される。

## 2. 研究の目的

本研究では、孤発性DCMでのサルコメア蛋白遺伝子のエピジェネティクス異常の解析を目的に以下の3つの項目を挙げる。DCM群および照群から採取した心筋生検組織を対象とし、サルコメア蛋白遺伝子群(-ミオシン重鎖1遺伝子、トロポニンT遺伝子、トロポニンI遺伝子および-トロポミオシン遺伝子)をコードするCpGサイトのDNAメチル化解析を行い、DCMに特異的なDNAメチル化部位を同定する。

1. 上記のサルコメア蛋白遺伝子のトランスクリプトーム制御するmicroRNA発現異常について解析を行い、DNAメチル化との関連解析を行いDCMの発症のメカニズムを探求する。
2. 病態の進行および生命予後に関連するエピジェネティクス制御異常を探索する。

本研究の学術的独創性と創造性は以下の2点である。

1. DCMを対象としたDNAメチル化に着目しエピジェネティクス制御異常に着目したケースコントロール研究は、これまでに報告がなく、全く新しい試みである。研究計画の立案に際しての作業仮説は、研究代表者らの独自の研究法と結果に基づく、独自のアイデアである。
2. DCMの発症に関わるエピジェネティクス制御異常の解析およびこれらの機能解析の成功は、心筋障害の終末像に陥っているDCMを再生する可能性を提供することになり、広く再生医療への応用が期待できる。

## 3. 研究の方法

1) 症例のリポート:研究への同意を得られた症例を対象とする。

- DCM群:岩手医科大学付属循環器医療センターへ入院となり、「拡張型心筋症ならびに関連する二次性心筋症の診療に関するガイドライン」(2009年~2010年合同研究班報告)の診断基準に合致した孤発性DCM症例、目標症例100例
- 対照群:不整脈あるいは二次性心筋症の疑いのため、岩手医科大学付属循環器医療センターへ入院となり心筋生検を施行した症例のうち、臨床所見および病理学所見共に明らかな異常所見を認めなかった症例を対照とした。目標症例100例。

2) 心筋生検サンプルの採取・保存

- 心筋生検サンプルの採取:経大腿あるいは頸静脈アプローチにより右心側心内膜心筋生検を施行し、右室側心室中隔から心筋生検組織を採取する。
- 心筋生検サンプルの保存:液体窒素やドライアイスを用いて迅速に凍結し、検査まで冷凍保存(-80°C)する。

3) サルコメア蛋白遺伝子群のDNAメチル化解析

- 心筋生検組織よりゲノムDNAを抽出し、これらのゲノムDNAの断片化処理を行う
- ゲノムDNAをバイサルファイト処理
- サルコメア蛋白遺伝子群をコードするCpGサイトのメチル化について、
- PyroMarkシステム(既存PyroMark, QIAGEN)を用いて、ゲノムDNAを解析する。

## 4. 研究成果

- 同意を得られたDCM群50例および対照群50例より心筋生検サンプルを収集した。
- これらのサンプルからゲノムDNAの抽出に成功した。
- 本研究では、孤発性拡張型心筋症(DCM)でのサルコメア蛋白遺伝子異常、特に、DNAメチル化解析に着目して検討した。
- 10箇所の代表的なサルコメア蛋白遺伝子のDNAメチル化部位について解析した。
- DCM群および対象群でのDNAメチル化には有意な差を認めなかった。
- すなわち、DCMに特異的なDNAメチル化部位を同定には至らなかった。

- しかし、本研究の学術的意義として心筋生検組織を用いた DNA メチル化解析の方法論を確立が挙げられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Matsunaga H, Ito K, Akiyama M, Takahashi A, Koyama S, Nomura S, Ieki H, Ozaki K, Onouchi Y, Sakaue S, Suna S, Ogishima S, Yamamoto M, Hozawa A, Satoh M, et al.	4. 巻 13
2. 論文標題 Transethnic Meta-Analysis of Genome-Wide Association Studies Identifies Three New Loci and Characterizes Population-Specific Differences for Coronary Artery Disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circ Genom Precis Med.	6. 最初と最後の頁 e002670
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/CIRCGEN.119.002670.	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Osaki T, Satoh M, Tanaka F, Tanno K, Takahashi Y, Nasu T, Sakata K, Morino Y, Sobue K, Sasaki M.	4. 巻 30
2. 論文標題 The Value of a Cystatin C-based Estimated Glomerular Filtration Rate for Cardiovascular Assessment in a General Japanese Population: Results From the Iwate Tohoku Medical Megabank Project	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Epidemiol.	6. 最初と最後の頁 260-267
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2188/jea.JE20180274.	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Nasu T, Satoh M, Hachiya T, Sutoh Y, Ohmomo H, Hitomi S, Taguchi S, Kikuchi H, Kobayashi T, Takahashi Y, Osaki T, Morino Y, Sobue K, Shimizu A, Sasaki M.	4. 巻 329
2. 論文標題 A genome-wide association study for highly sensitive cardiac troponin T levels identified a novel genetic variation near a RBAK-ZNF890P locus in the Japanese general population	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Cardiol.	6. 最初と最後の頁 186-191
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijcard.2020.12.019.	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Kotozaki Y, Satoh M, Tanno K, Ohmomo H, Otomo R, Tanaka F, Nasu T, Taguchi S, Kikuchi H, Kobayashi T, Shimizu A, Sakata K, Hitomi J, Sobue K, Sasaki M.	4. 巻 18
2. 論文標題 Plasma Xanthine Oxidoreductase Activity Is Associated with a High Risk of Cardiovascular Disease in a General Japanese Population	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Environ Res Public Health.	6. 最初と最後の頁 1894
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijerph18041894.	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 Hozawa A, Tanno K, Nakaya N, et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 Study profile of The Tohoku Medical Megabank Community-Based Cohort Study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Epidemiol.	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) 10.2188/jea.JE20190271.	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 Nasu T, Satoh M, Ohmomo H, Shiwa Y, Komaki S, Ono K, Shimizu A, Taguchi S, Takahashi Y, Osaki T, Morino Y, Sobue K, Sasaki M.	4. 巻 13
2. 論文標題 Epigenome-Wide Association Study Identifies a Novel DNA Methylation in Patients With Severe Aortic Valve Stenosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circ Genom Precis Med.	6. 最初と最後の頁 e002649
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCGEN.119.002649.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Takahashi Y, Satoh M, Ohmomo H, Tanaka F, Osaki T, Tanno K, Nasu T, Sakata K, Morino Y, Sobue K, Sasaki M	4. 巻 24
2. 論文標題 Association between high-sensitivity cardiac troponin T and future cardiovascular incidence in a general Japanese population: results from the Tohoku medical megabank project.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomarkers.	6. 最初と最後の頁 566-573.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/1354750X.2019.1606278.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Osaki T, Satoh M, Tanaka F, Tanno K, Takahashi Y, Nasu T, Sakata K, Morino Y, Sobue K, Sasaki M.	4. 巻 29
2. 論文標題 The Value of a Cystatin C-based Estimated Glomerular Filtration Rate for Cardiovascular Assessment in a General Japanese Population: Results from the Iwate Tohoku Medical Megabank Project.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Epidemiol.	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) 10.2188/jea.JE20180274.	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
研究 分 担 者	大桃 秀樹  (Ohmomo Hideki)  (90453406)	岩手医科大学・医歯薬総合研究所・講師   (31201)	

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
---------	---------