

令和 6 年 5 月 9 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08864

研究課題名(和文) LVAD装着患者におけるヒストン修飾による心機能回復メカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanism of functional recovery of failing heart by histone modification in patients with LVAD

研究代表者

伊東 絵望子 (Ito, Emiko)

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：80595629

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)：心不全に対する新規治療法開発のため、本研究では補助人工心臓でのunloadingによる心機能回復とH3K9メチル化の関連に着目し解析を行った。心筋細胞の低酸素下培養により、H3K9メチル化が低下する傾向が見られた。また、心臓における心筋組織に対する力学的作用を検討するため、培養心筋細胞に伸展刺激を行った結果、H3K9メチル化が亢進する傾向が見られた。さらに、H3K9メチル化酵素であるSUV39H1の遺伝子発現が亢進し、脱メチル化酵素であるJMJD1A、2A、2Dの遺伝子発現が低下していた。左室のunloadによりH3K9メチル化が亢進し、左室のリモデリングに寄与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで多数の重症心不全患者に対して補助人工心臓を装着し術後の病状を観察していく中で、LVADを装着する事により左心室心筋構造および心機能改善が認められ、実際にこれまで複数症例でLVADからの永久離脱に成功している。しかし、LVAD装着によるunloadingによる心機能回復のメカニズムは多くが未だ不明のままである。心不全心においてLVAD装着によるH3K9化学修飾とその転写制御のメカニズムが明らかとなれば、重症心不全のような重症化した心不全に対する新規治療法の開発に繋がる可能性があり、学術的・社会的意義は大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：To develop a novel therapeutic approach for heart failure, in this study, we focused on relationship between H3K9 methylation and the functional recovery in failing heart by unloading with the left ventricular assist device (LVAD). In human iPSC cell-derived cardiomyocytes (hiPSC-CMs) cultured under hypoxia, the expression of H3K9 methylation tended to be less. To examine the mechanical effects on myocardial tissue in the heart, hiPSC-CMs were cultured under cyclic stretch in a stretch chamber. The H3K9 methylation in hiPSC-CMs were upregulated under stretch culture. Furthermore, the gene expression of SUV39H1, an H3K9 methyltransferase, was increased, and the gene expression of JMJD1A, 2A, and 2D, which are demethylases, was decreased. These results suggested that left ventricular unloading may enhance H3K9 methylation and contribute to left ventricular remodeling.

研究分野：心臓血管外科学

キーワード：心不全 左室補助人工心臓 unloading ヒストンメチル化

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心不全は拡張型心筋症や虚血性心疾患によって引き起こされ、我が国の死亡原因の第2位を占めている。心不全治療は、病態に応じて内科的薬物療法や外科的治療が選択されるが、病状が改善しない重症心不全患者においては心臓移植が唯一の治療法である。しかしながら、心臓移植は深刻なドナー不足により長期間の待機を要することが問題となっている。

そのため現状では、ほとんど全ての患者で心臓移植到達までの待機期間、臓器不全をきたすことなく心臓移植までの状態を維持することを目的として左室補助人工心臓(LVAD)が用いられている。本来LVAD装着は血行動態を補助する目的で使用されるが、一部のLVAD装着患者において、左室圧および容量負荷軽減による左心unloadingによって、病的に拡大していた左心室の形態が正常方向へ変化する、いわゆるreverse remodelingから自己心機能回復をもたらす、LVADを離脱できる症例が報告されている。このようなLVAD装着による自己心機能回復のメカニズムを明らかにすることで、心不全に対する新規治療介入方法の開発が可能となると考えられることから、国内外で様々な研究が進められてきたが、未だ詳細な分子メカニズムの解明には至っていない。

一方、心不全の病態を解明する研究の中で、心筋細胞のエピジェネティックな遺伝子発現制御機構の変化が心不全発症に関与する可能性が複数報告されている。エピジェネティクスは、大きく分けてDNAメチル化、ヒストンタンパクの化学修飾(メチル化、アセチル化、リン酸化、モノユビキチン化など)、クロマチンリモデリングから成る。これまでに我々は、LVAD装着によるヒストンタンパクの化学修飾の関連について研究を進めてきた。その結果、正常ドナーの左室心筋組織に比して拡張型心筋症患者の左室心筋組織の心筋細胞ではヒストンH3K4と特にH3K9のメチル化が低下していたが、LVAD装着により正常と同程度にまで回復することを明らかにしている(Ito E, et al. Ann Thorac Surg. 2017;104(5):1531-1539.)。本結果から、H3K9メチル化とLVAD装着によるunloading、reverse remodelingとの関連が示唆されるが、H3K9メチル化がLVAD装着によりどのように制御されるのか、H3K9メチル化による転写制御からreverse remodelingおよび心機能回復のメカニズムに関しては明らかになっていない。

2. 研究の目的

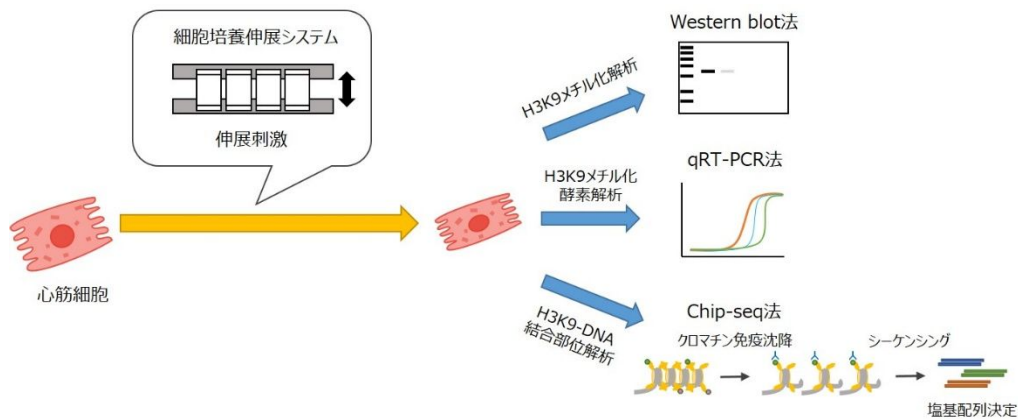
本研究において、我々は、LVAD装着によるH3K9メチル化制御機構、および心不全心においてH3K9メチル化による心機能回復をもたらすメカニズムの解明を目的としている。

3. 研究の方法

心不全心において、unloadingによりH3K9メチル化が変化するメカニズムの解明を行うため、ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いて機械的刺激によりunloadingを模した状況を作製し、H3K9メチル化の変化をWestern blottingもしくは免疫染色で評価する。また、H3K9のメチル化酵素であるG9a、ESET/SETDB1、SUV39H1、SUV39H2、脱メチル化酵素であるJMJD1A、JMJD2A、JMJD2Dの遺伝子発現の変化をqRT-PCRで行う。

さらに、unloadingにより変化するH3K9のメチル化がどのような遺伝子発現を制御しているかを解析するために、抗H3K9メチル化抗体を用いて免疫沈降を行い、沈降したDNA断片をシー

ケンサーにて解析し塩基配列を同定する。



4 . 研究成果

ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を低酸素下で培養を行って心筋虚血モデルを作製し、H3K9 メチル化の変化を検討した。結果、H3K9 のメチル化の発現が低下する傾向が見られた。また、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いて機械的刺激により unloading を模した状況を作製し、H3K9 メチル化の変化を検討した。結果、H3K9 のメチル化の発現が亢進する傾向が見られた。さらに、機械的刺激により unloading を模したヒト iPS 細胞由来心筋細胞において qRT-PCR を用いて H3K9 のメチル化酵素、脱メチル化酵素の遺伝子発現を qRT-PCR により検討した。結果、H3K9 のメチル化酵素である SUV39H1 の遺伝子発現の発現が亢進し、脱メチル化酵素である JMJD1A、JMJD2A、JMJD2D の遺伝子発現の発現が低下していた。

unloading により変化する H3K9 のメチル化がどのような遺伝子発現を制御しているかを解析するために、抗 H3K9 メチル化抗体を用いて免疫沈降を行ったが、シーケンサーで解析出来る DNA 断片を得る事が出来ず、H3K9 のメチル化がどのような遺伝子発現を制御しているかの検討は出来なかった。

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
研究分担者	河村 拓史 (Kawamura Takuji) (60839398)	大阪大学・大学院医学系研究科・助教 (14401)	

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