

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 難治性疾患実用化研究事業  
(英語) The practical research project for rare/intractable diseases

研究開発課題名： (日本語) ゲノム解析技術および疾患特異的 iPS 細胞を用いた心筋症に対する革新的な医薬品開発研究  
(英語) Innovative drug development for cardiomyopathy by integrating genome analysis technology and disease-specific iPS cells

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人東京大学 教授 小室一成  
所属 役職 氏名： (英語) Issei Komuro, Professor, Graduate School of Medicine,  
The University of Tokyo

実施期間： 平成26年4月1日 ～ 平成29年3月31日

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 教授 油谷浩幸  
所属 役職 氏名： (英語) Hiroyuki Aburatani, Professor, Graduate School of Medicine,  
The University of Tokyo

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 特任准教授 李 鍾國  
所属 役職 氏名： (英語) Jong-Kook Lee, Project Associate Professor, Graduate School of Medicine,  
Osaka University

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 講師 森田啓行  
所属 役職 氏名： (英語) Hiroyuki Morita, Lecturer, Graduate School of Medicine,  
The University of Tokyo

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

本研究は、心筋症患者のゲノム解析およびその患者由来 iPS 細胞を分化誘導した心筋細胞の解析を通して、心筋症患者のゲノム異常および心筋細胞異常を明らかにするとともに、心筋症 iPS 由来心筋細胞を用いたスクリーニング系を確立し、新たな心筋症治療薬を開発することを目的としたものである。

ゲノム解析により、我々は本邦の心筋症のゲノム変異の特徴を明らかにした。さらに、既知遺伝子変異のみならず、未知の新規遺伝子変異を複数同定しており、これらの中にも心筋症の治療標的となり得る分子を見出している。これは今後のゲノム医療の発展に大きく寄与する成果と考える。

また疾患特異的 iPS 細胞の解析においては、心筋症患者 iPS 細胞由来心筋細胞に特徴的な表現型を明らかにした。さらに、これらを指標としたハイコンテンツ解析系を構築し、1,000 種類を超える化合物のスクリーニングをおこなうことで、心筋症患者に有効と考えられる複数の化合物を同定することに成功した。

本研究において、ゲノム変異と細胞表現型を統合解析することにより心筋症の分子病態および治療候補を効率的に明らかにできることがわかった。そして、個々の変異と表現型をつなぐ網羅的な研究へと発展する基盤を構築することに成功した。

The aim of this study is to develop novel therapeutic approaches for cardiomyopathy by integrating genome analysis and patient-derived iPS cell analysis. We conducted the genome analysis to elucidate the genetic basis of cardiomyopathy in Japan. We identified not only mutations of known genes, but also critical mutations of novel causative genes, revealing potential therapeutic targets. We further developed high-throughput imaging analysis using patient-derived iPS cells to screen over 1,000 kinds of chemical substances and identified candidate chemicals for treatment of cardiomyopathy. These results demonstrate that integrative analysis of genomic mutations and cellular phenotypes enables the efficient identifications of candidate therapeutic targets of cardiomyopathy. This study has also established the basis for the development of comprehensive researches combining genetic variants and phenotypic changes.

## III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 12 件)

1. Arita Y, Nakaoka Y, Matsunaga T, Kidoya H, Yamamizu K, Arima Y, Kataoka-Hashimoto T, Ikeoka K, Yasui T, Masaki T, Yamamoto K, Higuchi K, Park JS, Shirai M, Nishiyama K, Yamagishi H, Otsu K, Kurihara H, Minami T, Yamauchi-Takahara K, Koh GY, Mochizuki N, Takakura N, Sakata Y, Yamashita JK, Komuro I. Myocardium-derived angiopoietin-1 is essential for coronary vein formation in the developing heart. *Nat Commun.* 2014, 5, 4552.
2. Gong H, Yan Y, Fang B, Xue Y, Yin P, Li L, Zhang G, Sun X, Chen Z, Ma H, Yang C, Ding Y, Yong Y, Zhu Y, Yang H, Komuro I, Ge J, Zou Y. Knockdown of nucleosome assembly protein 1-like 1 induces mesoderm formation and cardiomyogenesis via Notch signaling in murine induced pluripotent stem cells. *Stem Cells.* 2014, 32, 1759-73.

3. Yasui H, [Lee JK](#), Yoshida A, Yokoyama T, Nakanishi H, Miwa K, [Naito AT](#), Oka T, Akazawa H, Nakai J, Miyagawa S, Sawa Y, Sakata Y, [Komuro I](#). Excitation propagation in three-dimensional engineered hearts using decellularized extracellular matrix. *Biomaterials*. 2014, 35, 7839-50.
4. Kawamura T, Miyagawa S, Fukushima S, Yoshida A, Kashiyama N, Kawamura A, Ito E, Saito A, Maeda A, Eguchi H, Toda K, [Lee JK](#), Miyagawa S, Sawa Y. N-glycans: phenotypic homology and structural differences between myocardial cells and induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *PLoS One*. 2014, 9, e111064.
5. Suehiro J, Kanki Y, Makihara C, Schadler K, Miura M, Manabe Y, [Aburatani H](#), Kodama T, Minami T. Genome-wide approaches reveal functional vascular endothelial growth factor (VEGF)-inducible nuclear factor of activated T cells (NFAT) c1 binding to angiogenesis-related genes in the endothelium. *J Biol Chem*. 2014, 289, 29044-59.
6. Hayashi T, Asano Y, Shintani Y, Aoyama H, Kioka H, Tsukamoto O, Hikita M, Shinzawa-Itoh K, Takafuji K, Higo S, Kato H, Yamazaki S, Matsuoka K, Nakano A, Asanuma H, Asakura M, Minamino T, Goto Y, Ogura T, Kitakaze M, [Komuro I](#), Sakata Y, Tsukihara T, Yoshikawa S, Takashima S. Higd1a is a positive regulator of cytochrome c oxidase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015, 112, 1553-58.
7. Sumida T, [Naito AT](#), Nomura S, Nakagawa A, Higo T, Hashimoto A, Okada K, Sakai T, Ito M, Yamaguchi T, Oka T, Akazawa H, Lee JK, Minamino T, Offermanns S, Noda T, Botto M, Kobayashi Y, Morita H, Manabe I, Nagai T, Shiojima I, [Komuro I](#). Complement C1q-induced activation of  $\beta$ -catenin signalling causes hypertensive arterial remodelling. *Nat Commun*. 2015, 6, 6241.
8. Hirokawa M, [Morita H](#), Tajima T, Takahashi A, Ashikawa K, Miya F, Shigemizu D, Ozaki K, Sakata Y, Nakatani D, Suna S, Imai Y, Tanaka T, Tsunoda T, Matsuda K, Kadowaki T, Nakamura Y, Nagai R, [Komuro I](#), Kubo M. A genome-wide association study identifies PLCL2 and AP3D1-DOT1L-SF3A2 as new susceptibility loci for myocardial infarction in Japanese. *Eur J Hum Genet*. 2015, 23, 374-80.
9. Kamo T, Akazawa H, [Komuro I](#). Cardiac nonmyocytes in the hub of cardiac hypertrophy. *Circ Res*. 2015, 117, 89-98.
10. Okada K, [Naito AT](#), Higo T, Nakagawa A, Shibamoto M, Sakai T, Hashimoto A, Kuramoto Y, Sumida T, Nomura S, Ito M, Yamaguchi T, Oka T, Akazawa H, Lee JK, Morimoto S, Sakata Y, Shiojima I, [Komuro I](#). Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling Contributes to Skeletal Myopathy in Heart Failure via Direct Interaction With Forkhead Box O. *Circ Heart Fail*. 2015, 8, 799-808.
11. Yamagami K, Oka T, Wang Q, Ishizu T, [Lee JK](#), Miwa K, Akazawa H, [Naito AT](#), Sakata Y, [Komuro I](#). Pirfenidone Exhibits Cardioprotective Effects by Regulating Myocardial Fibrosis and Vascular Permeability in Pressure Overloaded Hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015, 309, H512-22.
12. Hashimoto A, [Naito AT](#), [Lee JK](#), Kitazume-Taneike R, Ito M, Yamaguchi T, Nakata R, Sumida T, Okada K, Nakagawa A, Higo T, Kuramoto Y, Sakai T, Tominaga K, Okinaga T, Kogaki S, Ozono K, Miyagawa S, Sawa Y, Sakata Y, [Morita H](#), Umezawa A, [Komuro I](#). Generation of Induced Pluripotent Stem Cells From Patients With Duchenne Muscular Dystrophy and Their Induction to Cardiomyocytes. *Int Heart J*. 2016, 57, 112-17.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Drug Discovery Against Heart Failure using Human iPS cells, 口頭, 内藤篤彦, 第18回日本心不全学会学術集会, 2014/10/10, 国内.
2. Scalable, reproducible, and economical method for producing cardiomyocytes from human iPS cells, ポスター, Ito M, Kuramoto Y, Naito A, 14<sup>th</sup> annual meeting, Safety Pharmacology Science, 2014/10/19-22, 国外.
3. Non-genetic method for purification of ventricular cells from human iPS cell-derived cardiomyocytes, ポスター, Kuramoto Y, Ito M, Naito A, 14<sup>th</sup> annual meeting, Safety Pharmacology Science, 2014/10/19-22, 国外.
4. Scalable, reproducible, and economical method for producing cardiomyocytes from human iPS cells, ポスター, Ito M, Takizawa R, Igarashi N, Naito M, Komuro I, Naito A, American Heart Association's Scientific Sessions 2014, 2014/11/15-19, 国外.
5. ヒト iPS 細胞の創薬への応用, 口頭, 内藤篤彦, 第 79 回日本循環器学会学術集会, 2015/4/25, 国内.
6. 幹細胞由来心筋細胞の医学研究への応用, 口頭, 内藤篤彦, 第 5 回レギュラトリーサイエンス学会学術集会, 2015/9/5, 国内.
7. iPS 細胞由来心筋細胞の創薬への応用, 口頭, 内藤篤彦, 第 19 回日本心不全学会学術集会, 2015/10/24, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. iPS 細胞を用いた循環器疾患に対する創薬, 内藤篤彦, For the Better Forum 2014, 2014/11/12, 国内.
2. Epigenetic Regulation in Cardiac Differentiation and Disease, 油谷浩幸, 第 52 回日本臨床分子医学会学術集会, 2015/4/10, 国内.
3. Epigenetic Regulation in Cardiac Differentiation and Disease, 油谷浩幸, 第 79 回日本循環器学会学術集会, 2015/4/25, 国内.
4. iPS 細胞を利用した心臓病の研究, 内藤篤彦, 東京大学医学部付属病院レセプションルーム (ノートルダム学院小学校・ディスカバリー東京・鎌倉コース (修学旅行の小学生を相手に研究内容を紹介) ), 2015/7, 国内.

(4) 特許出願

該当なし