

平成29年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：

(日本語) 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業

(英語) Practical Research Project for Life-Style related Diseases including Cardiovascular Diseases and Diabetes Mellitus

研究開発課題名：

(日本語) 心筋病理細胞核クロマチンスコアを用いた心不全リバーズリモデリング予測と多層的オミックス解析による心不全層別化指標の開発

(英語) Investigation of newly developed nuclear chromatin score for predicting reverse remodeling in heart failure and exploration of reversibility with omics-analyses.

研究開発担当者 (日本語) 大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学・教授・坂田泰史

所属 役職 氏名： (英語) Osaka University Graduate School of Medicine,  
Department of Cardiovascular Medicine, Professor,  
Yasushi Sakata

実施期間： 平成28年10月3日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 該当なし

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### 和文

国内数十万人が罹患する心不全の臨床経過はこれまで一方向性に増悪するものと考えられていたが、最適な治療により心機能が回復するリバースリモデリング症例が存在することが明らかとなっている。なかには、最も強力な心筋負荷軽減治療となりうる補助人工心臓（VAD）治療によりリバースリモデリングを呈する例も存在するが、薬物療法、非薬物療法などのあらゆる最適化療法を行っても不可逆進行型の症例も存在し、これらの症例群は、VAD 治療や心臓移植医療などを早期に考慮することが望まれ、治療反応性でもあるリバースリモデリングを考慮する上で層別化に繋がる新規サロゲートマーカーの確立が望まれている。

我々はこれまでに心不全モデル動物において、細胞核形態が心不全病期の進行につれて変化しうることを見出している。そこで、本研究は、心不全の中でもリバースリモデリングの恩恵が大きい心筋症患者を対象とし、不全心筋細胞に特徴的な細胞核形態変化または心不全特異的遺伝子の病理学的エピゲノム解析を行い、不可逆進行型の非リバースリモデリング例の選別と、非リバースリモデリング例とリバースリモデリング例の対比から、未だ実用化されないヒト心不全可塑性（リバースリモデリング）の分子指標を探索し、臨床応用することを目的とした。今年度は6か月間の研究期間であったため、1）重症心不全診療における心不全リバースリモデリングの判定指標開発、2）臨床心不全診療への社会実装を目指した臨床データ解析方法完成、3）多層トランスオミックス解析による新規サロゲートマーカー探索解析の中で、1）を中心に研究を進めた。

2009年4月～2015年12月に心不全の精査加療のため大阪大学医学部附属病院、国立循環器病研究センター病院に入院となり、左室駆出率低下（EF<35%）と心筋生検の結果で心筋症と診断された症例を登録した。リバースリモデリングの有無および死亡、植込み型補助人工心臓の心イベントの有無に関して臨床情報を収集し、電顕病理組織を解析して核膜クロマチン不連続群（A群）と核膜クロマチン連続群（N群）との分別化した結果、約8%にA群の所見を認め、A群はN群に比して有意に高率なイベント発症率を有し、リバースリモデリング定義を「EF10%単位増加かつLVEF>35%へ改善し、かつ心イベントがなかった症例」とした場合に、リバースリモデリングの発生率は、A群はN群より有意に低率であることを明らかにした。さらに基準を厳しくした「LVEF>50%への改善、かつ心イベントがなかった症例」と定義した場合はA群はリバースリモデリング例を認めず、核膜クロマチン不連続所見はリバースリモデリングを来さない不可逆進行性を示す指標であることを明らかにした。

また、トランスオミックス解析による疾患背景の探索・層別化と新たな心不全可逆性変化の原因を解明すべく、解析対象の中で心臓移植に至った症例について、ゲノム解析および心筋組織検体を用いたRNA-seq解析を行い、データ解析および検討を開始した。各疾患の遺伝性素因の探索を行うため超高速ゲノムシーケンス解析によるGenotypingを行い、既知遺伝子既知変異、既知遺伝子新規変異、新規遺伝子新規変異、の3種類に分類し、疾患表現型および本病理指標との関連性について検討を行った。さらに同症例について遺伝子発現の差異有無の検討を行い、疾患変異の同定における評価基準に用いるとともに、本研究における病理指標のサロゲートマーカーの探索にも用いたオミックス解析を実施した。

## 英文

Heart failure has become an increasing social burden due to the increasing number of patients. In some cases, optimal medical therapy results in the improvement of impaired left ventricular (LV) function and normalization of LV geometry, changes that are collectively called reverse remodeling (RR). However, no definitive predictive markers of LVRR exist and research in this field may yield important insights that will improve treatment planning. We have previously found serial morphometric changes of the ultrastructure of nuclear chromatin in cardiomyocytes of heart failure animal models. Based on our observations, we hypothesized that assessing the ultrastructure of nuclear chromatin by developing an original clinical and histopathological method may facilitate the prediction of the reversibility of myocardial dysfunction. Therefore, we planned to morphometrically assess the ultrastructure of nuclear chromatin and especially the peripheral chromatin that is attached to the nuclear envelope in patients with non-ischemic cardiomyopathy and to seek a molecular mechanism regulating LVRR using a trans-omics approach, such as whole exome sequencing or RNA sequencing.

We conducted a retrospective study of 225 patients with non-ischemic cardiomyopathy and reduced LV ejection fraction (LVEF  $\leq$ 35%), who were admitted for treatment in Osaka University Hospital or the National Cerebral and Cardiovascular Center between 2009 and 2015. Based on the evaluation of electron microscopy images, patients were categorized into either Group A (thin or breached nuclear envelope) or Group N (normal nuclear envelope). The incidence of LVRR (increase of LVEF >10 percentage points, leading to a post-LVEF >35% after one year, without any occurrence of cardiac events) in Group A was significantly lower than that in Group N. This difference was significant even after adjustment for age, BNP, or LVEF.

Next, we performed RNA sequence analysis with myocardial samples from about 40 patients who had undergone heart transplantation surgery, and started to assess the differences between Group A and Group N. We also performed whole exome sequence and genotyping in about 30 patients. Preliminary results indicate that there may be some differences in genotype between Group A and Group N.

### 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 2 件）

1. Konishi S, Minamiguchi H, Okuyama Y, Sakata Y. Sodium channel blockade unmasked Brugada electrocardiographic pattern in a patient with complete right bundle branch block and early repolarization in the lateral leads. Clin Case Rep. 2016 Oct 7;4(11):1061-1064.
2. Sakamoto Y, Kioka H, Hashimoto R, Takeda S, Momose K, Ohtani T, Yamaguchi O, Wasa M, Nakatani S, Sakata Y. Cardiogenic shock caused by a left midventricular obstruction during refeeding in a patient with anorexia nervosa. Nutrition. 2017 Mar;35:148-150

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 坂田泰史 第 55 回日本人工臓器学会（鳥取/米子コンベンションセンター・国内）  
2016 年 11 月 24 日 口頭 セッション名「日本心不全学会ジョイントシンポジウム」  
植込型補助人工心臓実施施設から見た管理施設への期待
2. 坂田泰史 第 27 回日本心血管画像動態学会（三重/ホテルグリーンパーク津・国内）  
2017 年 1 月 21 日 口頭 合同シンポジウム「左室拡張不全と心筋性状：心エコー、MRI、CT  
でどこまで迫れるか？」
3. 坂田泰史 第 81 回日本循環器学会（金沢/石川県音楽堂・国内）  
2017 年 3 月 19 日 口頭 委員会セッション(学術委員会)Translational Research 振興事業最  
終報告「心筋病理細胞核クロマチンスコアを用いた重症心不全可塑性臨床診断指標の開発と実  
用化」
4. 坂田泰史 第 81 回日本循環器学会（金沢/石川県音楽堂・国内）  
2017 年 3 月 19 日 口頭 委員会セッション ガイドライン解説  
心臓移植適応判定と必要な検査
5. Ishihara S, Ohtani T, Konishi S, Sera F, Tsukamoto Y, Kioka H, Mizuno H, Yamaguchi O,  
Saito Y, Sakata Y. 第 81 回日本循環器学会（金沢/石川県音楽堂・国内）  
2017 年 3 月 17 日ポスター The difference of the incidence in reverse remodeling between  
DCM and DHCM patients.
6. Katsimichas T, Ohtani T, Asano Y, Kanzaki M, Tsukamoto Y, Kioka H, Mizuno H, Yamaguchi  
O, Sakata Y. 第 81 回日本循環器学会（金沢/石川県音楽堂・国内）  
2017 年 3 月 18 日口頭 Morphological characteristics of the cardiomyocyte nuclear envelope  
as predictors of reverse remodeling in patients with non-ischemic cardiomyopathy.

7. Konishi S, Ohtani T, Mizuno H, Ishihara S, Chimura M, Minamiguchi H, Tsukamoto Y, Yamaguchi O, Sakata Y. 第 81 回日本循環器学会 (金沢/石川県音楽堂・国内)  
2017 年 3 月 19 日口頭 Electrocardiographical Predictors of Left Ventricular Reverse Remodeling in Non-ischemic Cardiomyopathy.
8. Katsimichas T, Ohtani T, Asano Y, Kanzaki M, Tsukamoto Y, Kioka H, Yamaguchi O, Sakata Y. Heart Failure 2017, Heart Failure Association of the ESC (France/Paris・海外)  
2017 年 4 月 29 日ポスター Morphological alterations of the cardiomyocyte nuclear envelope may preclude the potential for reverse remodelling in patients with non-ischemic cardiomyopathy

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 「拡張不全の発症メカニズム」, 坂田泰史, 第 49 回ヒューマンサイエンス総合研究セミナー, 砂防会館別館, 2017/3/2, 国内

(4) 特許出願

該当なし