

研究助成 2015—生活習慣病領域—

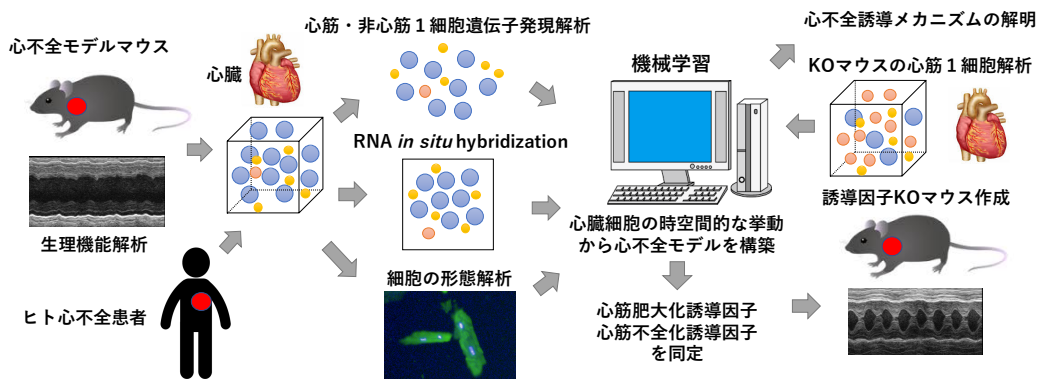
研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	東京大学大学院医学系研究科 循環器内科学
氏 名	野村 征太郎
研究テーマ	時空間的 1 細胞トランスクリプトーム解析から切り込む心不全の病態解明

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は 1 ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

心臓は全身に血液を送り生命を支えているが、常に血行力学的な負荷にさらされている。高血圧などの病的な負荷に対して心臓は当初壁ストレスを減らすように代償的に肥大するが、慢性的な負荷は心臓の恒常性を破綻させ心臓機能低下・心不全を惹起する。しかし、生体において心臓細胞がどのようにストレスに応答し相互作用しながら、臓器機能を維持、または破綻に導いているか明らかでない。

本研究は、生体の心臓細胞のストレス応答を 1 細胞レベルで詳細に解析するシステムを構築して、ストレスが心不全を誘導する際に、個々の細胞がどのように形態レベルかつ分子レベルでリモデリングを起こして臓器の恒常性を維持もしくは破綻に導いているかを明らかにしたものである。



上図は本研究の流れを示したものであり、以下に具体的に明らかとなった解析結果の概要を示す。

1. 横行大動脈縮窄による圧負荷心不全モデル(負荷 2 週後に心肥大、4-8 週後に心不全)の 6 タイムポイントで心筋細胞を単離して 1 細胞 RNA-seq 解析を行い、9 つの心筋遺伝子プログラムを同定し、心筋細胞を 7 グループに分類し、心筋リモデリングにおける転写ダイナミクスを明らかにした。
2. 心筋遺伝子プログラムの発現パターンを心臓切片の 1 細胞 1 分子 RNA *in situ* hybridization により解析し、心臓の内・中・外の 3 層において空間的な細胞応答不均一性があることを明らかにした。
3. 同一心筋細胞の形態情報・1 細胞トランスクリプトーム・エピゲノムを統合解析することにより、圧負荷刺激による心筋肥大の程度はミトコンドリアの翻訳・代謝関連遺伝子の発現と相関しており、その発現は ERK1/2、NRF1/2 シグナルの転写ネットワークにより制御されていることを明らかにした。
4. 1 細胞ネットワーク解析により肥大心筋細胞で活性化される心不全誘導シグナルを同定し、その制御因子の心筋特異的 KO マウスを作成して解析することで心筋不全化誘導因子を明らかにした。
5. ヒト心不全患者の心筋 1 細胞解析により、マウスで同定された心筋遺伝子プログラムの種を超えた保存性を確認し、心筋・心臓の状態把握、予後予測など本技術の臨床応用への展望を開いた。
6. 圧負荷心不全モデルの非心筋 1 細胞 RNA-seq 解析により、詳細な分子プロファイルによる心臓非心筋細胞の分類を行うとともに、線維芽細胞における新規の TGF-β シグナル制御分子を同定した。
7. 遺伝子改変マウス解析により、この分子は TGF-β1 を分解して TGF-β シグナルを負に制御し、心筋肥大化・心臓線維化・心不全誘導にストップをかける心臓恒常性維持因子であることを解明した。

本研究は、心臓細胞の形態・分子・機能を繋ぐ遺伝子プログラムの時空間的な挙動(リモデリング)、種を超えた保存性、多様な細胞社会による心臓の恒常性制御機構を解明しただけでなく、統合 1 細胞解析による高解像度な分子病態解析法を確立した。これはあらゆる生命現象や疾患病態の解明に応用され、患者の分子病態解析・層別化・治療応答予測といった精密医療の実現に大きく貢献する。

研究助成 2015—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <発表実績/予定一覧>

所 属	東京大学大学院医学系研究科 循環器内科学
氏 名	野村 征太郎

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。 国内外雑誌を問わない。 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。
1	Yamaguchi J, Tanaka T, Saito H, <u>Nomura S</u> , Aburatani H, Waki H, Kadowaki T, Nangaku M. Echinomycin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 cells in a HIF-independent manner. Scientific Reports . 7: 6516, 2017 (査読有)。
2	Higo T, Naito AT, Sumida T, Shibamoto M, Okada K, <u>Nomura S</u> , Nakagawa A, Yamaguchi T, Sakai T, Hashimoto A, Kuramoto Y, Ito M, Hikoso S, Akazawa H, Lee JK, Shiojima I, McKinnon PJ, Sakata Y, Komuro I. DNA single-strand break-induced DNA damage response causes heart failure. Nature Communications . 8: 15104, 2017 (査読有)。
3	Nakamura S, Koyama T, Izawa N, <u>Nomura S</u> , Fujita T, Omata Y, Minami T, Matsumoto M, Nakamura M, Fujita-Jimbo E, Momoi T, Miyamoto T, Aburatani H, Tanaka S. Negative feedback loop of bone resorption by NFATc1-dependent induction of Cadm1. PLoS One . 12: e0175632, 2017 (査読有)。
4	Kamo T, Akazawa H, Suda W, Saga-Kamo A, Shimizu Y, Yagi H, Liu Q, <u>Nomura S</u> , Naito AT, Takeda N, Harada M, Toko H, Kumagai H, Ikeda Y, Takimoto E, Suzuki JI, Honda K, Morita H, Hattori M, Komuro I. Dysbiosis and compositional alterations with aging in the gut microbiota of patients with heart failure. PLoS One . 12: e0174099, 2017 (査読有)。
5	Kushida N, <u>Nomura S</u> , Mimura I, Fujita T, Yamamoto S, Nangaku M, Aburatani H. Hypoxia-Inducible Factor-1 α Activates the Transforming Growth Factor- β /SMAD3 Pathway in Kidney Tubular Epithelial Cells. American Journal of Nephrology . 44: 276-285, 2016 (査読有)。
6	duVerle DA, Yotsukura S, <u>Nomura S</u> , Aburatani H, Tsuda K. CellTree: an R/bioconductor package to infer the hierarchical structure of cell populations from single-cell RNA-seq data. BMC Bioinformatics . 17: 363, 2016 (査読有)。
7	Nakagawa A, Naito AT, Sumida T, <u>Nomura S</u> , Shibamoto M, Higo T, Okada K, Sakai T, Hashimoto A, Kuramoto Y, Oka T, Lee JK, Harada M, Ueda K, Shiojima I, Limbourg FP, Adams RH, Noda T, Sakata Y, Akazawa H, Komuro I. Activation of endothelial β -catenin signaling induces heart failure. Scientific Reports . 6: 25009, 2016 (査読有)。
8	Okada K, Naito AT, Higo T, Nakagawa A, Shibamoto M, Sakai T, Hashimoto A, Kuramoto Y, Sumida T, <u>Nomura S</u> , Ito M, Yamaguchi T, Oka T, Akazawa H, Lee JK, Morimoto S, Sakata Y, Shiojima I, Komuro I. Wnt/ β -Catenin Signaling Contributes to Skeletal Myopathy in Heart Failure via Direct Interaction With Forkhead Box O. Circulation Heart Failure . 8: 799-808, 2015 (査読有)。
9	野村征太郎 「ゲノム解析からわかった心筋症の precision medicine」 雑誌「循環器内科」. 82: 31-36, 2017 (査読無)。
10	野村征太郎 「単一細胞解析で切り込む疾患病態の解明」 雑誌「内分泌・糖尿病・代謝内科」 44: 1-7, 2017 (査読無)。

11	野村征太郎、小室一成 「1細胞解析による疾患病態解析」 雑誌「循環器内科」81: 469-475, 2017 (査読無).
12	野村征太郎 発生生物学における1細胞オミクス解析 医学のあゆみ 258: 299-303, 2016 (査読無).

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 国内外を問わない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2017年3月19日	第81回日本循環器学会学術集会、野村征太郎、Genetics of Cardiomyopathy
2	2016年10月8日	第20回日本心不全学会学術集会、野村征太郎、心筋症のハイスループットな遺伝子解析技術の構築とその応用
3	2016年10月7日	第20回日本心不全学会学術集会、野村征太郎、システム生物学的アプローチによる心不全1細胞モデリング
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2017年10月28日 投稿	Nature Medicine Cardiomyocyte gene programs encoding morphological and functional signatures in cardiac hypertrophy and failure. Nomura S , Satoh M, Fujita T, Higo T, Sumida T, Ko T, Yamaguchi T, Tobita T, Naito AT, Ito M, Fujita K, Harada M, Toko H, Kobayashi Y, Ito K, Takimoto E, Akazawa H, Morita H, Aburatani H, Komuro I.
2	2017年10月20日 投稿	Journal of the American College of Cardiology Genetic basis of cardiomyopathy and the genotypes involved in prognosis and left ventricular reverse remodeling. Nomura S , Tobita T, Fujita T, Morita H, Asano Y, Onoue K, Ito M, Imai Y, Suzuki A, Ko T, Satoh M, Fujita K, Naito AT, Furutani Y, Toko H, Harada M, Shiga T, Nakanishi T, Sakata Y, Ono M, Saito Y, Takashima S, Hagiwara N, Aburatani H, Komuro I.
3	2017年10月6日 リバイズ投稿 2017年7月5日 初回投稿	Scientific Reports Identification of MYLK3 mutations in familial dilated cardiomyopathy. Tobita T, Nomura S , Morita H, Ko T, Fujita T, Toko H, Uto K, Hagiwara N, Aburatani H, Komuro I
4	2017年11月10日 投稿予定	Journal of Molecular and Cellular Cardiology High-throughput single-RNA molecule imaging analysis reveals spatial heterogeneity of cardiomyocytes in stress response. Satoh M, Nomura S , Harada M, Yamaguchi T, Ko T, Sumida T, Toko H, Naito AT, Takeda N, Tobita T, Fujita T, Ito M, Kariya T, Takimoto E, Akazawa H, Kobayashi Y, Aburatani H, Komuro I.
	2017年12月20日 投稿予定	Nature Single-cell analysis of non-cardiomyocytes reveals a critical regulator of cardiac homeostasis. Ko T, Nomura S , Fujita T, Satoh M, Tobita T, Fujita K, Ito M, Toko H, Harada M, Aburatani H, Komuro I.
5	2017年11月8-11日 発表予定	Cold Spring Harbor Laboratory meeting "Single-cell analyses" Single-cell analysis reveals the coordinated molecular and morphological dynamics of cardiomyocytes in heart failure. Nomura S , Aburatani H, Komuro I.

6	2018年3月23-25日 発表予定	日本循環器学会総会 会長特別企画「複雑重症心不全とどう戦うか?~Two heads or Too many cooks?~」 今後の心不全の分子病態解析法 野村 征太郎
7	2018年8月25-29日 発表予定	European Society of Cardiology Congress 2018 ESC-JCS Joint Symposium Comprehensive targeted sequencing of cardiomyopathy in Japan and its relation to phenotype Seitaro Nomura