

## Banyu Foundation Research Grant 2014—生活習慣病領域—

## 研究成果報告書(最終) &lt;概要&gt;

所 属	慶應義塾大学医学部循環器内科
氏 名	片岡雅晴
研究テーマ	成熟期心筋細胞の細胞周期と分裂能を調整する新規 lincRNA の同定と機能解析

- ・ 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)

ヒト遺伝子のうち、蛋白質をコードする遺伝子は、全染色体 DNA の 2%を占めるに過ぎないが、全染色体 DNA の半分以上は RNA へと転写されており、蛋白質をコードしない RNA (non-coding RNA)が大量に存在することが近年注目されている。特に、約 200 塩基以上の長さを有する long intergenic non-coding RNA (lincRNA)については、その存在や機能について、いまだほとんど解明されていない。一方、心筋細胞は幼若期には細胞分裂能・増殖能を有しているが、成体期成熟心筋細胞では細胞周期が停止し、細胞分裂しない。よって本研究では、成熟期心筋細胞での細胞周期調整メカニズムにおける lincRNA の機能を解明することを目的とした。

成体期マウス心臓に心筋梗塞を作成して、心筋梗塞後 3 日後および 14 日後の心筋から RNA を抽出し、lincRNA アレイを用いた網羅的な lincRNA スクリーニングを施行した。その結果、心筋梗塞 3 日後の梗塞 border-zone 域において、複数の lincRNA の発現量が大きく変動することを確認した。次に、lincRNA アレイ(初期スクリーニング 1 万個以上)の結果から、心筋梗塞 3 日後の border-zone 域において発現量が 5 倍以上に大きく変動している lincRNA を絞りこみ、それらの発現量を定量的 PCR 法にて確認し、lincRNA アレイの発現量と一致しているものをさらに絞り込んだ。続いて、心臓で特異的な発現をしている lincRNA を絞り込むために、マウスの脳・心臓・肺・肝臓・骨格筋・脾臓から RNA を抽出して定量的 PCR 法と Northern blotting 法によって、最終的に心臓に特異的に発現量が多く、心筋梗塞時に梗塞域近辺で大きく発現量の変動する lincRNA を 1 つ絞り込み、それを *linc-Heart* と名付けた。

*linc-Heart* は、各臓器の中で心臓特異的に高発現し、心筋梗塞では急性期の梗塞域近辺で発現量が低下した。また、胎生期心臓では発現量が低下しており、成長に伴い発現量が増加した。アデノ関連ウイルス(AAV)ベクターを用いて *linc-Heart* を心臓に導入し大動脈縮窄手術(TAC)を施行したところ、コントロール群(AAV-Luciferase 注入心臓)と比較し、*linc-Heart* 導入心臓では TAC 術後の心拡大が著明に抑制され、その効果は *linc-Heart* による心筋細胞サイズの正常維持によることが判明した。しかし、*linc-Heart* 導入心臓においても、TAC 後の心室筋の壁厚は肥大をしていたため、*linc-Heart* 導入心臓では成熟心筋細胞が再び細胞周期に入り細胞分裂をすることで心筋細胞数が増加することが予想された。実際に、細胞増殖マーカー-ph3 陽性心筋細胞は、コントロール群では皆無だが、*linc-Heart* 導入心臓の TAC 術急性期には ph3 陽性細胞が高率に確認された。これらの結果から、*linc-Heart* 過剰発現によって、TAC 後の成体期心筋細胞の細胞周期を再開させ、細胞増殖を誘導できることが実証された。*linc-Heart* による心筋細胞周期調整の詳細なメカニズムを現在解析中であり、将来的な治療への応用も模索している。

本研究成果によって、病態心臓内で生存している正常機能の静止期成熟心筋細胞に対して lincRNA を介して細胞周期を再開させることが可能であることが実証され、病態心臓における心機能回復を目指した治療への可能性につながる。これは従来の再生医療とは大きく異なる新規の発想法による心臓治療概念といえる。将来的な発展性として、本研究により、lincRNA の心筋細胞における細胞周期調節の鍵がより詳細に明らかとなれば、同様の機能を有するヒト lincRNA を同定し、それを既に他疾患治療で臨床応用されている AAV を用いて心筋へ遺伝子導入する等の方法により、ヒト心筋梗塞後のリモデリング抑制や慢性的な高血圧症に合併した心肥大での心機能改善等へ応用できる可能性が広がり、将来的な臨床貢献が大いに期待される。

## Banyu Foundation Research Grant 2014—生活習慣病領域—

## 研究成果報告書(最終) &lt;発表実績/予定一覧&gt;

所 属	慶應義塾大学医学部循環器内科
氏 名	片岡雅晴

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> <li>国内外雑誌を問わない。</li> <li>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。</li> <li>欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>
1	Inami T, <u>Kataoka M</u> , Yanagisawa R, Ishiguro H, Shimura N, Fukuda K, Yoshino H, Satoh T. Long-term outcomes after percutaneous transluminal pulmonary angioplasty for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. <b>Circulation</b> . in-press.
2	Isobe S, <u>Kataoka M</u> , Aimi Y, Gamou S, Satoh T, Fukuda K. Improved survival of patients with pulmonary arterial hypertension with BMPR2 mutations in the last decade. <b>Am J Respir Crit Care Med</b> . 2016;193:1310-1314.
3	Yanagisawa R, <u>Kataoka M</u> , Inami T, Fukuda K, Yoshino H, Satoh T. Intravascular imaging-guided percutaneous transluminal pulmonary angioplasty for peripheral pulmonary stenosis and pulmonary Takayasu arteritis. <b>J Heart Lung Transplant</b> . 2016;35:537-540.
4	Huang ZP, Ding Y, Chen J, Wu G, <u>Kataoka M</u> , Hu Y, Yang JH, Liu J, Drakos SG, Selzman CH, Kyselovic J, Qu LH, Dos Remedios CG, Pu WT, Wang DZ. Long non-coding RNAs link extracellular matrix gene expression to ischemic cardiomyopathy. <b>Cardiovasc Res</b> . 2016. pii: cvw201.
5	Kawakami T, <u>Kataoka M</u> , Arai T, Yanagisawa R, Maekawa Y, Fukuda K. Retrograde approach in balloon pulmonary angioplasty: useful novel strategy for chronic total occlusion lesions in pulmonary arteries. <b>JACC Cardiovasc Interv</b> . 2016;9:e19-20.
6	Ishiguro H, <u>Kataoka M</u> , Inami T, Shimura N, Yanagisawa R, Kawakami T, Fukuda K, Yoshino H, Satoh T. Diversity of lesion morphology in CTEPH analyzed by OCT, pressure wire, and angiography. <b>JACC Cardiovasc Imaging</b> . 2015;9:324-325.
7	Huang ZP, <u>Kataoka M</u> , Chen J, Wu G, Ding J, Nie M, Lin Z, Liu J, Hu X, Ma L, Zhou B, Wakimoto H, Zeng C, Kyselovic J, Deng ZL, Seidman CE, Seidman JG, Pu WT, Wang DZ. Cardiomyocyte-enriched protein CIP protects against pathophysiological stresses and regulates cardiac homeostasis. <b>J Clin Invest</b> . 2015;125:4122-4134.
8	Shimura N, <u>Kataoka M</u> , Inami T, Yanagisawa R, Ishiguro H, Kawakami T, Higuchi Y, Ando M, Fukuda K, Yoshino H, Satoh T. Additional percutaneous transluminal pulmonary angioplasty for residual or recurrent pulmonary hypertension after pulmonary endarterectomy. <b>Int J Cardiol</b> . 2015;183:138-42.
9	Yanagisawa R, <u>Kataoka M</u> , Inami T, Momose Y, Kawakami T, Takei M, Kimura M, Isobe S, Yamakado M, Fukuda K, Yoshino H, Sano M, Satoh T. Usefulness of circulating amino acid profile and Fischer ratio to predict severity of pulmonary hypertension. <b>Am J Cardiol</b> . 2015;115:831-836.
10	Momose Y, Aimi Y, Hirayama T, <u>Kataoka M</u> , Ono M, Yoshino H, Satoh T, Gamou S. De novo mutations in the BMPR2 gene in patients with heritable pulmonary arterial hypertension. <b>Ann Hum Genet</b> . 2015;79:85-91.
11	Ding J, Chen J, Wang Y, <u>Kataoka M</u> , Ma L, Zhou P, Hu X, Lin Z, Nie M, Deng ZL, Pu WT, Wang DZ. Trbp regulates heart function through microRNA-mediated Sox6 repression. <b>Nat Genet</b> . 2015;47:776-783.

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 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。</li> <li>・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>・ 国内外を問わない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2016年10月2日	第1回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会、片岡雅晴、教育講演 2「遺伝学的に迫る肺高血圧症の最新知見」
2	2016年10月2日	第1回日本肺高血圧・肺循環学会学術集会、片岡雅晴、シンポジウム講演「次世代を担う肺高血圧症治療薬の展望」
3		
4		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2016年度中を目標	本報告書の研究内容に関して海外英文雑誌への論文投稿準備を進めている。
2		
3		
4		