

Banyu Foundation Research Grant 2010—生活習慣病領域—

研究成果最終報告書<概要>

施設・所属: 大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科学 氏名 朝野 仁裕

1. 概要の構成は自由ですが、研究助成報告として広報資料に掲載されます点をご留意ください。
2. 研究目的、研究手法、研究成果など、一般の方にもわかりやすくしてください。
3. 枚数は1ページでまとめてください。(図表、写真などの添付を含む)

**【研究目的】**

慢性心不全が難治性重症化した際、**病態の可塑性を判断する臨床指標**を我々は持たない。病態が難治化する機序ですら明らかではない。人工心臓治療や移植医療が行われる今日、心筋可塑性・生存性 (viability) 評価法の確立は急務である。そこで近年注目される慢性疾患における疾患エピゲノム機序を利用した、治療抵抗性を診断する臨床診断マーカーを開発することを目的として、本研究を行った。

**【研究手法】**

心不全動物モデルによる解析条件の検討を行い、ヒト臨床についても心臓移植施設として蓄積してきた初期、中期、移植登録時、心臓移植時の経時的な心筋組織サンプルを用い、最新の解析機器を利用した以下3種類の検討を行った。

**1) 超高圧電子顕微鏡による心筋細胞核の3次元超微細構造解析と臨床診断指標の開発:**

光学顕微鏡、従来型電子顕微鏡像に加えて10nmの構造観察を行った。電子顕微鏡画像を解析することによりヘテロクロマチン領域の量的変化をクロマチンスコアとして測定し、従来用いられた心筋可塑性マーカーと比較検証した。

**2) 次世代シーケンサーによる組織心筋のゲノムワイドなエピゲノム修飾プロファイル作成:**

独自開発した組織クロマチン免疫沈降法を利用し、各種エピゲノム因子について次世代シーケンス解析を行い、発現制御プロファイルを作成した。

**3) 高感度 Nano LC MS によるクロマチン関連タンパク相互作用分子の網羅的探索:**

ヘテロクロマチン形成に最も重要な蛋白の一つである Heterohromatin Protein 1 を標的に、遺伝子発現制御に関わる分子修飾と、相互作用分子の網羅的解析を行った。

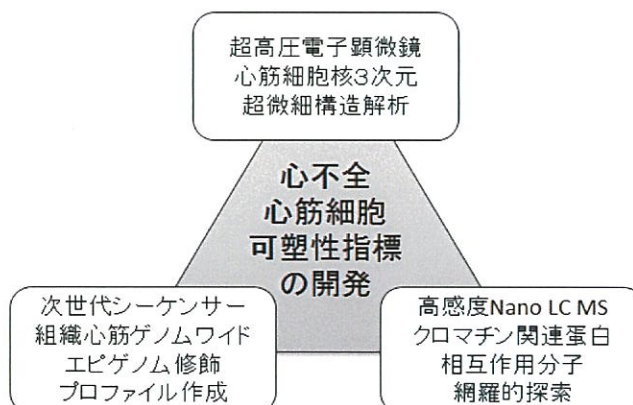
**【研究成果】**

・心不全病態における“持続的細胞記憶メカニズム”を先駆けて提唱し、エピゲノム因子の心臓組織解析技術 (組織クロマチン免疫沈降法) を独自に開発した。

・ヘテロクロマチン領域形成に重要な役割を示す Heterohromatin Protein 1 に対して、C133の酸化に伴うジスルフィド結合が、TIF1b の結合に作用し、転写制御に影響を及ぼすことを明らかにした。(J Biol Chem. 2010;285(41):31337-47)

・重症心不全のエピゲノムプロファイルを作成し、心不全感受性エピゲノム修飾因子をゲノムワイド網羅的に同定し特異的修飾部位を選定した (paper in preparation)。

・心不全可塑性を判断可能な病理学的指標として心筋超微細構造変化をクロマチンスコアとして測定することに成功し、人工心臓導入・離脱の判断指標としての新規有用性を示した (paper in preparation)。



**Banyu Foundation Research Grant 2010—生活習慣病領域—  
研究成果最終報告書〈発表実績/予定一覧〉**

施設・所属: 大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科学 氏名 朝野 仁裕

|   | 発表時期           | 発表学会または論文掲載/投稿誌   |
|---|----------------|---|
|   | <b>論文掲載</b>    |   |
| 1 | 2010年10月8日 掲載  | <i>J Biol Chem.</i> 2010 Oct 8;285(41):31337-47<br>Isoform-specific intermolecular disulfide bond formation of heterochromatin protein 1 (HP1). |
|   | <b>学会発表</b>    |   |
| 2 | 2010年11月17日 発表 | 米国心臓協会学術集会<br>American Heart Association Scientific Sessions 2010   |
| 3 | 2012年6月14日 発表  | 第11回日本再生医療学会総会<br>「パネルディスカッション 再生医療に貢献する技術」   |
| 4 | 2012年10月27日 発表 | 第29回国際心臓研究学会(ISHR)日本部会総会  |
| 5 | 2012年11月5日 発表  | 米国心臓協会学術集会<br>American Heart Association Scientific Sessions 2012   |
|   | <b>研究会発表</b>   |   |
| 6 | 2010年9月4日 発表   | 第1回 Molecular Cardiovascular Conference II  |
| 7 | 2011年5月18日 発表  | 大阪ハートクラブ<br>「心不全の新しい病態解析法新しい心筋 viability 評価法の開発による治療抵抗性心不全へのアプローチ」  |
| 8 | 2011年9月4日 発表   | 第2回 Molecular Cardiovascular Conference II  |
|   |                |   |
|   |                |   |
|   |                |   |