

研究助成 2021 – 生活習慣病領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

| | |
|------------------|------------------------|
| 所 属 | 慶應義塾大学医学部 |
| 氏 名 | 楠本 大 |
| 研 究 テ ー マ | 血管内皮細胞に着目した新規心臓病治療法の開発 |

- 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、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。
（図表、写真などの貼付を含む）

<研究目的>

全身に張り巡らされた血管は臓器恒常性維持に大切な役割を果たしており、特に、内腔を覆う血管内皮細胞の機能異常は、恒常性破綻や病態進行につながる。心血管疾患などの生活習慣病や加齢に伴う臓器障害を克服する鍵として病的血管内皮細胞への介入が極めて大切であると考え、治療開発を実行する。本研究開発では、組織中に存在する様々な細胞の転写産物を1細胞ごとに網羅的に解析するシングルセル RNA シーケンス技術を駆使する。特に ①細胞間相互作用解析による「病的相互作用の阻害治療開発」②多臓器統合解析による「臓器横断的な恒常性維持機構解明」の、2つの治療開発プロジェクトに着目し、病的血管に介入する新規の心血管疾患に対する治療法を提案していく。

<研究手法>

本邦における心不全の主要因の一つである高血圧性心不全を模倣する、横行大動脈結紮心不全モデルマウス（TAC マウス）を採用し、時系列に沿って正常心臓、肥大期心臓、拡張心不全期心臓からそれぞれ非心筋細胞を抽出し、シングルセル RNA シーケンスを実行した。データセットは機械学習の手法を用いて統合し、各細胞集団に分類を行った。特に血管内皮細胞に着目し、心臓内の他細胞との病的相互作用の抽出を行った。さらに病的相互作用を阻害する治療開発のため、心不全マウスモデル・培養細胞を用いた治療開発を実行した。また血管内皮細胞は臓器ごとに多様性があることが知られているが、臓器横断的に共通の特徴を有する集団として増殖内皮細胞を特定し、増殖内皮細胞における特徴的遺伝子を抽出した。増殖内皮細胞特徴的遺伝子の制御機構に着目し、新規の心不全治療開発のためマウスモデル・培養細胞による検討を行った。

<研究成果>

心不全進行における病的な細胞間相互作用の抽出を行ったところ、血管内皮-線維芽細胞における心不全進行とともに増加する異常シグナルの検出に成功した。異常シグナルを血管内皮細胞特異的にノックアウトするマウスの作成を行ったところ、TAC マウスにおける心不全進行、心臓線維化が抑制されることが判明した。さらに、異常シグナルの阻害剤投与により心不全進行が抑制され、新規の心不全治療法として有望であると考えられた(Katsuki T, Kusumoto D, et al. bioRxiv. 2023)。さらに、多臓器統合解析により増殖内皮細胞が各臓器に存在し、心臓においてもかなりの割合で観察されることが判明した。増殖内皮細胞を特徴づける特異的遺伝子を抽出し、血管内皮細胞特異的ノックアウトマウス作成を行ったところ、自然発症の心不全を来すことが判明した。培養内皮細胞・マウスを用いた検証で、特異的遺伝子は炎症反応経路や心不全発症を抑制することが判明した。一方、血管内皮細胞において特異的遺伝子を強制発現させることで、酸化ストレスに誘導される炎症反応や、TAC マウスの心不全進行が抑制された。増殖内皮細胞における特異的遺伝子は心臓の臓器恒常性に重要な役割を持つと考えた(投稿準備中)。

研究助成 2021 – 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 | 慶應義塾大学医学部 |
| 氏 | 名 | 楠本 大 |

| 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<u>下線</u>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 | Katsuki T, <u>Kusumoto D*</u> , Akiba Y, Kimura M, Komuro J, Nakamura T, Hashimoto H, Kuoka T, Suzuki Y, Kubota Y, Fukuda K, Yuasa S*, Ieda M. Endothelial-fibroblast interactions during Scarb1 accelerate heart failure. <i>bioRxiv</i> . 2023. doi: https://doi.org/10.1101/2023.09.15.557661 . 査読なし *責任著者 |
| 2 | Komuro J, <u>Kusumoto D</u> , Hashimoto H, Yuasa S. Machine learning in cardiology: Clinical application and basic research. <i>J Cardiol</i> . 82: 128-133, 2023. 査読あり |
| 3 | Komuro J, Tokuoka Y, Seki T, <u>Kusumoto D</u> , Hashimoto H, Katsuki T, Nakamura T, Akiba Y, Kuoka T, Kimura M, Yamada T, Fukuda K, Funahashi A, Yuasa S. Development of non-bias phenotypic drug screening for cardiomyocyte hypertrophy by image segmentation using deep learning. <i>Biochem Biophys Res Commun</i> . 632: 181-188, 2022. 査読あり |
| 4 | Ito S, Hashimoto H, Yamakawa H, <u>Kusumoto D</u> , Akiba Y, Nakamura T, Momoi M, Komuro J, Katsuki T, Kimura M, Kishino Y, Kashimura S, Kunitomi A, Lachmann M, Shimojima M, Yozu G, Motoda C, Seki T, Yamamoto T, Shinya Y, Hiraide T, Kataoka M, Kawakami T, Suzuki K, Ito K, Yada H, Abe M, Osaka M, Tsuru H, Yoshida M, Sakimura K, Fukumoto Y, Yuzaki M, Fukuda K, Yuasa S. The complement C3-complement factor D-C3a receptor signalling axis regulates cardiac remodelling in right ventricular failure. <i>Nat Commun</i> . 13(1): 5409, 2022. 査読あり |
| 5 | <u>Kusumoto D*</u> , Shinsuke Y, Fukuda K*. Induced Pluripotent Stem Cell-Based Drug Screening by Use of Artificial Intelligence. <i>Pharmaceuticals</i> .15(5): 562, 2022. *責任著者 査読あり |
| 6 | Matsubara T, Iga T, Sugiura Y, <u>Kusumoto D</u> , Sanosaka T, Tai-Nagara I, Takeda N, Fong GH, Ito K, Ema M, Okano H, Kohyama J, Suematsu M, Kubota Y. Coupling of angiogenesis and odontogenesis orchestrates tooth mineralization in mice. <i>J Exp Med</i> . 219(4): e20211789, 2022. 査読あり |

| | |
|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 7 | Ando T, Tai-Nagara I, Sugiura Y, Kusumoto D , Okabayashi K, Kido Y, Sato K, Saya H, Navankasattusas S, Li DY, Suematsu M, Kitagawa Y, Seiradake E, Yamagishi S, and Kubota Y. Tumor-specific inter-endothelial adhesion mediated by FLRT2 facilitates cancer aggressiveness. <i>J Clin Invest.</i> e153626. 2022. 査読あり |
| 8 | Iga T, Kobayashi H, Kusumoto D , Sanosaka T, Fujita N, Tai-Nagara I, Ando T, Takahashi T, Matsuo K, Hozumi K, Ito K, Ema M, Miyamoto T, Matsumoto M, Nakamura M, Okano H, Shibata S, Kohyama J, Kim KK, Takubo K, Kubota Y. Spatial heterogeneity of bone marrow endothelial cells unveils a distinct subtype in the epiphysis. <i>Nat Cell Biol.</i> in press. 査読あり |

様式 4-3②

| 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 | 2023年12月10日 | 第40回国際心臓研究学会日本部会。Yohei Akiba, Dai Kusumoto , Masaki Ieda. Novel Treatment for Heart Failure Mediated by Vascular Endothelial Cells. 神戸。口頭 (YIA) |
| 2 | 2023年10月6日 | 日本心不全学会学術集会。Yohei Akiba, Dai Kusumoto , Masaki Ieda. Novel Treatment for Heart Failure Mediated by Vascular Endothelial Cells. 横浜。口頭 (YIA) |
| 3 | 2023年7月9日 | 日本動脈硬化学会学術集会。楠本 大。機械学習を用いた細胞画像認識と心血管研究への応用。(招待講演) |
| 4 | 2023年6月9日 | 第23回日本抗加齢医学会総会シンポジウム。楠本 大。機械学習を用いた細胞評価による抗老化薬探索。第23回日本抗加齢医学会総会シンポジウム。(招待講演) |
| 5 | 2023年5月27日 | 第8回日本血管生物医学会若手研究会。 楠本 大 。AIを用いたiPS細胞由来分化心筋細胞の時系列予測。(招待講演) |
| 6 | 2022年12月17日 | 第30回日本血管生物医学会学術集会。秋葉庸平, 楠本大 , 勝木俊臣, 木村舞, 小室仁, 中村貴裕, 橋本寿之, 福田恵一, 湯浅慎介。臓器横断的な一細胞解析による血管内皮細胞を介した恒常性維持機構の解明。東京。口頭。 |
| 7 | 2022年12月17日 | 第30回日本血管生物医学会学術集会。石原朋美, 楠本大 。深層学習による画像解析を用いた遺伝性早老症に対する新規治療法探索。東京。口頭。 |
| 8 | 2022年12月17日 | CVMW 2022。楠本 大。Application of artificial intelligence to cardiovascular research。(招待講演) |

| | | |
|----|-------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 9 | 2022年12月16日 | CVMW 2022. 楠本 大 . Development of deep learning-based drug screening system. |
| 10 | 2022年11月11日 | 第95回日本生化学会大会. 楠本 大 . 人工知能を用いた細胞認識技術と心血管疾患治療法開発への応用. (招待講演) |
| 11 | 2022年9月24日 | 第70回心臓病学会学術集会. 楠本 大 . 機械学習を活用した循環器基礎研究から臨床応用への道筋. (招待講演) |
| 12 | 2022年9月23日 | 第70回心臓病学会学術集会. 楠本 大 . 人工知能による負荷心筋血流シンチグラフィー自動診断システム. |
| 13 | 2022年6月11日 | 第4回日本メディカルAI学会学術集会. 楠本 大 . 人工知能を用いた負荷心筋血流シンチグラフィー診断補助システム構築. |
| 14 | 2022年3月5日 | 第7回日本血管生物若手研究会. 楠本 大 . Artificial Intelligence for Vascular biology. |

3. 投稿、発表予定

| | 投稿/発表時期 | 雑誌名、学会名等 |
|---|---------|----------|
| 1 | | |
| 2 | | |
| 3 | | |
| 4 | | |
| 5 | | |
| 6 | | |