

第 10 回万有医学奨励賞 – 生活習慣病領域 – 研究成果報告書（追加助成） <概要>

| | |
|--------------|--|
| 所 属 | 東京大学医学部附属病院 循環器内科 |
| 氏 名 | 候 聡志 |
| 研究テーマ | 一細胞解析と <i>in vivo</i> CRISPR/Cas9 システムの融合による心不全リプログラミング因子スクリーニング |

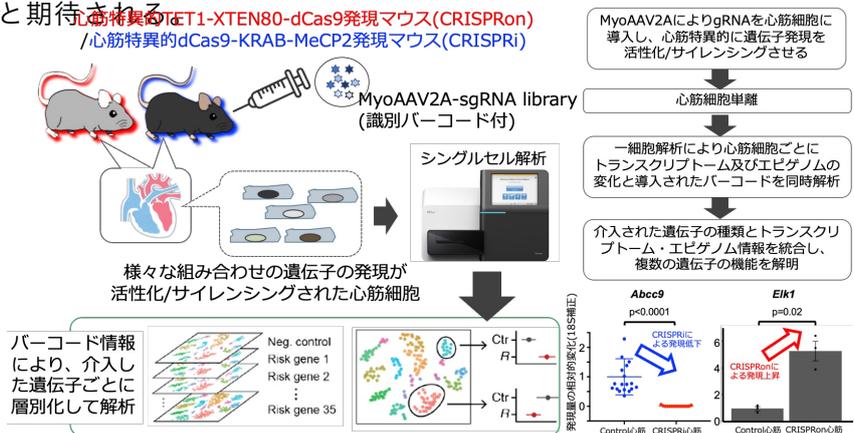
- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。（図表、写真などの貼付を含む）

心不全は国内外問わず患者数が増えており、治療予後も悪い。申請者らはこれまで各種心不全モデルマウスや患者検体を用いてシングルセル RNA-seq 解析(scRNA-seq)やマルチオミクス解析等により、心不全の分子病態機序に迫ってきた。こうした網羅的解析では膨大なデータが得られるものだが、それを如何に処理し、有用な情報を抽出(新規心不全治療ターゲットの探索)するのは未解決の課題である。申請者らは本研究助成を受けてこの課題の解決のため、① *in vivo* Perturb-seq 実験系の確立と② scRNA-seq データの解析による心不全治療ターゲットの絞り込みに取り組んだ。

① *in vivo* Perturb-seq 実験系の確立

CRISPR 技術の応用として、gRNA 依存性に対象遺伝子を転写抑制する dCas9-KRAB-MeCP2、そして逆に対象遺伝子を転写活性化させる TET1-XTEN80-dCas9 が開発されたが、申請者らはこれらの flox マウスを樹立することに成功した。aMHC-Cre マウスとのかけ合わせによりこれらのコンストラクトを心筋特異的に発現させ、様々な遺伝子を標的とする gRNA 搭載 AAV ベクターライブラリーを設計・投与した後、その心筋細胞を scRNA-seq 解析(Perturb-seq)することで、ハイスループットに異なる遺伝子の発現を抑制ないしは活性化された個々の心筋における表現系を確認できると期待される。

予備実験により、dCas9-KRAB-MeCP2 によるサイレンシング(CRISPRi)や TET1-XTEN80-dCas9 による転写活性化(CRISPRon)は十分機能することが明らかとなった。今後前者については機能を調べたい心筋症関連遺伝子パネル、後者については心不全進展関連遺伝子パネルのライブラリーを作成して実験を進める予定である。



② scRNA-seq データの解析による心不全治療ターゲットの絞り込み

in vivo Perturb-seq であっても一度に調べられる遺伝子の種類は 30-50 種類程度に限られるため、scRNA-seq のデータを解析して事前にある程度解析対象の絞り込みを行う必要があり、そのための効果的な解析方法の開発にも取り組んだ。心筋細胞-非心筋細胞間コミュニケーションの解析や重み付け遺伝子共発現ネットワーク解析により線維芽細胞特異的に発現する Htra3 を見出し、心不全発症時における心保護的役割を明らかにした。また、scRNA-seq と空間的遺伝子発現解析の統合解析により、心筋梗塞急性期の梗塞巣辺縁部におけるメカノストレス応答遺伝子の発現活性化を見出し、その心保護的な役割を明らかにした。最後に、scRNA-seq+scATAC-seq の統合解析により重症拡張型心筋症を引き起こす LMNA Q353R 変異の分子病態を明らかにした。

第 10 回万有医学奨励賞 – 生活習慣病領域 –

研究成果報告書（追加助成）＜発表実績/予定一覧＞

| | |
|-----|-------------------|
| 所 属 | 東京大学医学部附属病院 循環器内科 |
| 氏 名 | 候 聡志 |

| 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。 ● 論文の PDF を添付すること。 ● 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 | Inoue S, Ko T (co-first author) , Shindo A, Nomura S, Jimba T, Dai Z, Katoh M, Yamada S, Katagiri M, Zhang B, Hatsuse S, Yamada T, Inoue S, Kubota M, Sawami K, Heryed T, Ito M, Amiya E, Hatano M, Takeda N, Morita H, Yamanishi Y, Saito Y, Komuro I. Association between Clonal Hematopoiesis and Left Ventricular Reverse Remodeling in Non-ischemic Dilated Cardiomyopathy. JACC Basic Transl Sci. <i>in press</i> . |
| 2 | Dai Z, Ko T (co-first author) , Fujita K, Nomura S, Uemura Y, Onoue K, Hamano M, Katoh M, Yamada S, Katagiri M, Zhang B, Hatsuse S, Yamada T, Inoue S, Kubota M, Sawami K, Heryed T, Ito M, Amiya E, Hatano M, Takeda N, Morita H, Yamanishi Y, Saito Y, Komuro I. Myocardial DNA Damage Predicts Heart Failure Outcome in Various Underlying Diseases. JACC Heart Fail. 2023; S2213-1779(23)00680-7. |
| 3 | Inoue S, Ko T, Nomura S, Yamada T, Jimba T, Dai Z, Zhang B, Kato M, Ishida J, Amiya E, Hatano M, Takeda N, Morita H, Ono M, Komuro I. Compound Heterozygous Truncating Variants in the BAG5 Gene as a Cause of Early-Onset Dilated Cardiomyopathy. Circ Genom Precis Med. 2023; e004282. |
| 4 | Yamada S, Ko T (co-first author) , Katagiri M, Morita H, Komuro I. Recent Advances in Translational Research for Heart Failure in Japan. J Card Fail. 2023; 29(6): 931-938. |
| 5 | Katoh M, Ko T , Katagiri M, Yamada S, Ito M, Komuro I. How Can We Survive the Heart Failure Pandemic Era? Basic Research for Understanding the Pathophysiology of Heart Failure and Development of Novel Therapies. Journal of Asian Pacific Society of Cardiology 2023; 2: e15. |
| 6 | Yamada S, Ko T (co-first author) , Ito M, Sassa T, Nomura S, Okuma H, Sato M, Imasaki T, Kikkawa S, Zhang B, Yamada T, Seki Y, Fujita K, Katoh M, Kubota M, Hatsuse S, Katagiri M, Hayashi H, Hamano M, Takeda N, Morita H, Takada S, Toyoda M, Uchiyama M, Ikeuchi M, Toyooka K, Umezawa A, Yamanishi Y, Nitta R, Aburatani H, Komuro I. TEAD1 trapping by the Q353R-Lamin A/C causes dilated cardiomyopathy. Sci Adv. 2023; 9(15): eade7047. |
| 7 | Yamada T, Nomura S, Amiya E, Katoh M, Inoue S, Hatsuse S, Fujita K, Ito M, Fujita T, Bujo C, Tsuji M, Ishida J, Ko T , Yamada S, Katagiri M, Sassa T, Kinoshita O, Nawata K, Tobita T, Satoh M, Ishiwata J, Daimon M, Tatsuno K, Fukuda S, Kashimura T, Minamino T, Hatano M, Ono M, Aburatani H, Komuro I. LMNA Mutations and Right Heart Failure in Patients With Cardiomyopathy and With Left Ventricular Assist Devices. J Card Fail. 2023; 29(5): 855-857. |
| 8 | Yamada S, Ko T (co-first author) , Hatsuse S, Nomura S, Zhang B, Dai Z, Inoue S, Kubota M, Sawami K, Yamada T, Sassa T, Katagiri M, Fujita K, Katoh M, Ito M, Harada M, Toko H, Takeda N, Morita H, Aburatani H, Komuro I. Spatiotemporal transcriptome analysis reveals critical roles of mechano-sensing genes at the border zone in remodeling following myocardial infarction. Nat Cardiovasc Res. 2022; 1: 1072-1083. |
| 9 | Katagiri M, Yamada S, Katoh M, Ko T , Ito M, Komuro I. Heart Failure Pathogenesis Elucidation and New Treatment Method Development. JMA J. 2022; 5(4): 399-406. |
| 10 | Ko T , Nomura S. Manipulating Cardiomyocyte Plasticity for Heart Regeneration. Front Cell Dev Biol. 2022; 10: 929256 |
| 11 | Ko T , Nomura S, Yamada S, Fujita K, Fujita T, Satoh M, Oka C, Katoh M, Ito M, Katagiri M, Sassa T, Zhang B, Hatsuse S, Yamada T, Harada M, Toko H, Amiya E, Hatano M, Kinoshita O, Nawata K, Abe H, Ushiku T, Ono M, Ikeuchi M, Morita H, Aburatani H, Komuro I. Cardiac fibroblasts regulate the development of heart failure via Htra3-TGF-β-IGFBP7 axis. Nat Commun. 2022; 13(1): 3275. |

| 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。 ● アブストラクト、プログラム等の PDF を添付すること。 ● 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9日 | 第7回日本循環器学会基礎部会、Toshiyuki Ko、Single-Cell Analysis to Explore the Molecular Pathology of Heart Failure |
| 2 | 2023年11月3日 | The 25 th Chinese Society of Cardiology、Toshiyuki Ko、Quantification of Myocardial DNA Damage Predicts Prognosis of Heart Failure from Various Underlying Diseases |
| 3 | 2023年10月13日 | 67 th Annual Scientific Meeting of the Korean Society of Cardiology、Toshiyuki Ko、Quantification of Myocardial DNA Damage Predicts Prognosis of Heart Failure from Various Underlying Diseases |
| 4 | 2023年5月26日 | The 17 th Oriental Congress of Cardiology、Toshiyuki Ko、Single-Cell Analysis for the Precision Medicine of Heart Failure |
| 5 | 2023年5月13日 | 第9回日本心筋症研究会、候 聡志、マルチオミクス解析による重症家族性 DCM の病態解明 |
| 6 | 2022年12月17日 | 第6回日本循環器学会基礎部会、Toshiyuki Ko、Single-Cell Analysis to Explore the Molecular Pathology of Heart Failure |
| 7 | 2022年9月23日 | 第70回日本心臓病学会学術集会シンポジウム、候 聡志、先端解析技術を用いた疾患病態分子基盤の解明 |
| 8 | 2022年8月7日 | The 52 nd Annual Convention & Scientific Session of the Taiwan Society of Cardiology、Toshiyuki Ko、Single-Cell Analysis to Explore the Molecular Pathology of Heart Failure |
| 9 | 2022年6月13日 | The 24 th World Congress of International Society for Heart Research、Toshiyuki Ko、Aberrant interaction between TEAD1 and Lamin A/C causes dilated cardiomyopathy |
| 10 | 2022年5月27日 | The 16 th Oriental Congress of Cardiology、Toshiyuki Ko、Aberrant interaction between TEAD1 and Lamin A/C causes dilated cardiomyopathy |
| 11 | 2022年3月13日 | 第86回日本循環器学会、Toshiyuki Ko、Aberrant Interaction Between TEAD1 and Lamin A/C Impairs Cardiomyocyte Maturation in LMNA-related Cardiomyopathy |
| 3. 投稿、発表予定（投稿中の論文も含める） | | |
| | 投稿/発表時期 | 雑誌名、学会名等 |
| 1 | 2023年12月 in revision | Katoh M, Nomura S, Yamada S, Ito M, Hayashi H, Katagiri M, Ko T , Fujita K, Zhang B, Inoue S, Dai Z, Kubota M, Sawami K, Ono M, Morita H, Nakagami H, Aburatani H, Komuro I. Vaccine therapy for heart failure targeting the inflammatory cytokine Igfbp7. <i>Circulation</i> . |
| 2 | 2023年1月 In revision | Ko T , Suzuki Y, Kaneko H, Jimba T, Komuro J, Okada A, Fujii K, Takeda N, Morita H, Node K, Yasunaga H, Takeda N, Komuro I. Applying the HARMS ₂ -AF Risk Score for Japanese population: An analysis of a nationwide epidemiological dataset. <i>Eur J Prev Cardiol</i> . |