

公益財団法人富山第一銀行奨学財団
理事長 野村 充 殿

助成研究成果概要報告書

教育機関名	富山大学附属病院	助成金額	800 千円
研究代表者	廣野恵一	所属	附属病院糸魚川地域医療支援学 職位：寄附講座教員 (客員教授)
研究題目：心臓の経時的単一細胞プロファイリングによる心筋緻密化障害における段階特異的な代謝および構造的欠陥の解明			

研究概要

左心室非緻密化症 (LVNC) は、心筋緻密層の低形成と非緻密化層の顕著な存在を特徴とする心筋症で、小児では 3 番目に多い心筋症である。胚発生期における LVNC の病態解明の重要性が示唆されてきたが、胎児期から新生児期にわたる代謝変化を包括的に検討した研究は存在しない。本研究では、根治的な創薬につなげることを念頭に、患者由来の病的 MYH7 バリエントを用いたノックインマウスモデルを作出し、胚発生期から新生児期にわたるシングルセル RNA シーケンシング (scRNA-seq) 解析により、LVNC の時間的病態動態を包括的に解明することを目的とした。

実際の LVNC 患者より次世代シーケンシング (NGS) で同定された MYH7 F230S バリエントを標的とし、CRISPR-Cas9 により C57BL/6J 系統マウスの Myh7 F230S 変異ノックインマウスを作出した。ホモマウスは胎生致死を示し、高い病原性が示唆された。ヘテロマウスは心エコー検査で収縮能の有意な低下 (FS: $24.54 \pm 1.74\%$ vs WT: $32.58 \pm 1.90\%$, $p=0.012$) を呈し、組織学的には E15.5 から非緻密層/緻密化層 (NC/C) 比の増大および筋層三層構造の変化がみられ、ヒト LVNC 表現型を忠実に再現するモデルと判断した。

E12.5、E15.5、E18.5、P1 の 4 発生段階で scRNA-seq 解析を実施した。心室心筋細胞を細胞周期マーカーに基づき未熟型と成熟型に分類し、E15.5 においてヘテロマウスで未熟心室心筋細胞の有意な増加、心内膜細胞および心外膜細胞の減少を認めた。遺伝子オントロジー (GO) 解析では、酸化的リン酸化、脂肪酸 β 酸化、ケトン体代謝、NAD⁺ 生合成などの代謝経路が顕著に抑制されており、これらの代謝異常は形態学的緻密化障害に先行していた。特に E15.5 では解糖系遺伝子 *Ldha* の一時的亢進やストレス応答遺伝子 (*Nppa*、*Ankrd1*) の有意な発現上昇がみられ、E15.5 が病態形成の決定的時間窓であることが示された。

成果要約

本研究により、以下の主要な成果が得られた。

第一に、患者由来 MYH7 F230S バリエントのノックインマウスモデルの確立に成功し、ホモ接合体の胎生致死、ヘテロ接合体の収縮能低下・持続性肉柱形成・心筋構築異常など、ヒト LVNC 表現型を忠実に再現するモデルであることを証明した。

第二に、4 発生段階にわたる scRNA-seq 解析により MYH7 関連 LVNC の初の包括的時間的単一細胞アトラスを構築した。E15.5 (ヒト妊娠 10-12 週に相当) を、未熟心筋細胞の増加・心内膜/心外膜細胞の減少・増殖異常・代謝障害が収束する病態形成の決定的時間窓として同定した。

第三に、酸化的リン酸化・脂肪酸 β 酸化・ケトン体代謝・NAD⁺ 生合成の包括的抑制が形態学的緻密化障害に先行することを明らかにし、代謝異常が LVNC の一次的病因機序であることを実証した。これにより、LVNC を単なる構造的発達障害から「代謝構造的疾患」として理解するパラダイムシフトを提示した。

第四に、ストレス応答遺伝子 (*Nppa*、*Ankrd1*) の E15.5-E18.5 における細胞種横断的な発現亢進と、生後期 (P1) の Hif3a

による代償的低酸素応答を同定し、時間的に明確な病態段階を解明した。

本研究成果は、代謝経路を治療標的としたメカニズムに基づく介入の可能性を提供するものである。今後、ATAC 解析による転写調節の検証および代謝プロファイリングによる機能検証を進める方針である。

研究成果発表状況	雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況		
投稿中	Cardiovascular Research に投稿中		
経費の執行状況	区 分	執行額(円)	備 考
	消耗品	744,840	
	旅費	55,160	
	謝金	0	
	その他	0	