

厚生労働科学研究費補助金(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業)

総合研究報告書

次世代遺伝子解析による希少難治性循環器疾患の診断治療法の開発と
臨床実用化に関する研究

研究代表者 小室一成 東京大学大学院医学系研究科 教授

【研究要旨】

詳細なゲノム情報の利用実現は、難治性疾患の原因遺伝子に基づく医療アプローチを可能とした。本研究は診断法及び創薬に関する標的同定を最終目標とし、その迅速な臨床実用化を企図し実施された。

本研究では次世代シーケンス解析の実践と同定遺伝子情報を診断治療に迅速に応用するため以下に挙げる独創的手法を利用した。過去に本研究領域で研究代表者及び分担者らが担当した厚生労働省難治性疾患克服研究事業における希少難治性疾患動物モデル開発、病態機序解析、及びヒト臨床研究で得た多くの成果を有効に活用しヒト臨床における遺伝子解析研究と連結することにより、診断治療の創薬開発とその迅速なる臨床実用化に大きく寄与させることが可能である。

迅速なゲノム医療への応用のため、既知変異の迅速な鑑別除外により、新規変異を持つ確率の高い症例に次世代解析を行い、新規分子ないし変異に対する機動力ある表現型機能解析と同定遺伝情報の臨床応用への時間短縮をはかることとした。難治性循環器疾患の遺伝性家系及び心不全症例の生体試料バンクの利用し、ゲノム解析の精度と速度を高める方策をとるとともに、同定遺伝子の機能解析の為に開発した、ゼブラフィッシュ実験系、Dual-CCDカメラ/LED光源装備/倒立型電動リサーチ顕微鏡 - 細胞機能解析装置や、世界に先駆け新規に開発実用化に成功した *in vivo* FRET プローブ - イメージング解析システムは心臓機能の生体精密機能解析における新規同定遺伝子の生理活性の有無の検索に有用であることが証明された。これら手法を利用し *in vivo* 検証の迅速化や、生化学的解析法を利用した独自の生理活性物質同定およびシーズ探索を行い、ゲノム創薬へ向けてヒト iPS 細胞による検証を用いた治療標的リガンド開発を目指すことにより、得られたゲノム情報を迅速かつ有効に臨床に結びつける研究へと展開することができた。

症例の蓄積においては、詳細な臨床情報と密に連結可能な症例を蓄積することで、他には無い独自の臨床データ解析が可能な症例バンクを構築することに成功し、その情報を基にした二次性心筋症はじめ病因既知の循環器疾患を除外することができるようになった。それらの症例からゲノム解析を行う症例を選択するというシステムを作り上げることができ、実際のゲノム解析にあたっては、次世代シーケンス解析の効率化をはかるため、ゲノムワイドに既知原因遺伝子の変異を優先して探索除外する情報解析システムを作成することができた。本方法に他疾患への網羅性、拡張性があり、コスト的にも有利であると考えられた。

実際に新規遺伝子同定に成果を上げ、家系症例を対象に Microsatellite marker を用いた連鎖解析を行うことで、難治性不整脈の家系の疾患原因遺伝子として新規遺伝子を同定することにも成功した。心筋細胞機能変化を示す重要な分子をスクリーニングすることで、難治性心筋症発症に関わると想定される新規遺伝子を同定した。既に有意な標的分子も得て、創薬開発を目的とした企業共同研究も開始する見通しとなり当初目的とした創薬開発に繋げる研究を実施することができた。

【研究分担者】

所属機関 大阪大学大学院医学系研究科
教授
氏名 澤 芳樹

所属機関 東京大学先端科学技術研究センター
教授
氏名 油谷 浩幸

所属機関 大阪大学大学院医学系研究科
助教
氏名 朝野 仁裕

所属機関 大阪大学大学院医学系研究科
准教授
氏名 李 鍾國 (H24 年度より分担)

所属機関 国立循環器病研究センター
室長
氏名 山崎 悟 (H24 年度より分担)

所属機関 滋賀医科大学
教授
氏名 扇田 久和 (H24 年度より分担)

所属機関 関西医科大学
教授
氏名 塩島 一朗
(H23 年度分担、分担当時大阪大学))

A. 研究目的

循環器系難治性疾患の原因遺伝子は多岐にわたり未だ全てが明らかではない。一方早期治療と予後改善をもたらす社会的、経済的効果は計り知れない。

遺伝性が濃厚な希少難治性疾患の家系症例を対象に、原因となる新規 rare variant を同定し、その分子機能解析と実用化診断治療薬となる分子標的を見出すとともに、診断および治療薬標的を同定し、臨床実用化を目指す。

当初に以下 ~ の目標を掲げ研究を実施することとした。

実臨床への普及実用化が可能なゲノム解析

システムのモデル化

(23-25 年度)

次世代遺伝子解析による新規遺伝子同定

(23-25 年度)

Genotype から Phenotype へのフィードバック解析

(23-24 年度)

細胞モデルと遺伝性疾患動物モデルによる in vivo 検証の迅速化

(23-24 年度)

生理活性物質同定および治療薬シーズ探索

(24-25 年度)

ゲノム創薬、治療標的リガンド開発と臨床実用化へ向けた検証

(24-25 年度)

希少難治疾患の原因となる遺伝子変異を同定すること、およびそれら遺伝子変異について疾患群出現頻度を検証するとともに、治療薬開発を目指すことが可能である。これら既存のシーズ候補だけでなく、拠点施設と連携し複数の未解析家系から迅速に新規遺伝子同定を行う本ゲノム創薬研究は、今後の臨床実用化研究のモデルとなり得ると考えられる。

B. 研究方法

1. 迅速なゲノム解析を実施する環境整備と実用的解析システムの構築

1) 集積された症例の独自の臨床データ解析とゲノム解析症例の選定

ヒトゲノム解析の説明と同意を得た心血管系難治性疾患患者を解析対象者とし、遺伝性が濃厚な家系症例から順に、心筋症:4 家系・約 30 例、頻脈性不整脈(家族性突然死を含む):3 家系・約 20 例、血管疾患:1 家系・約 5 例を当初の目標に症例収集を行う。目標症例数には

上限を設けず、遺伝性循環器疾患を疑うものを中心に症例収集を行う。また、家系ではなくとも、孤発症例のうち、二次性心筋症を除外したことから最終的には約 100 症例を目標に検体収集を行う(大阪大学ヒトゲノム倫理審査既に承認済)。

2) 実臨床への普及実用化が可能な次世代ゲノム解析用情報解析システムのモデル化(既知未知バリエーション情報を分別する情報解析システムの構築)

本研究は未知原因遺伝子の新規変異探索を主としている。既知原因遺伝子内の既知変異、未知変異に関する変異同定、およびその家系の除外による未知遺伝子変異を有すると推定される家系の抽出を効率良く行う必要がある。

既知遺伝子における変異有無の迅速かつ低コストに効率良く鑑別する方法を得るため、当初 Affymetrics 社製 Chip 技術を利用した標的遺伝子の配列検出を計画したが、研究期間内に次世代シーケンス技術による、target resequence の精度面、コスト面のメリットがはるかに大きくなったため、既知遺伝子における変異有無を検出する方法をキット化し確立することとした。

また、研究開始時には次世代シーケンサーを用いた全 Exome 解析に関する日本人の variant database が確立されていなかったため、独自に in-house の variant database を持つことを目的として、疾患群、疾患コントロール群を含めた、約 100 症例の全 Exome 解析を行うこととした。

心血管疾患特異的な遺伝子の同定を効率良く行うため、得られた fastq ファイル形式のデータをもとに Linux サーバシステムを用いてバリエーション検出ができるプログラムを、既存のスク립トと独自に開発したスク립トを組み合わせ、本研究解析に適したパイプラインとして新たに構築することとした。

3) 拠点施設ゲノムバンク化事業に協力可能な検体収集システムの構築

循環器疾患ゲノム解析症例の蓄積のみならず、非循環器疾患症例、および家系内非発症症例を対象に、全 Exome 解析における in-house variant data のプロファイリングに適した症例の蓄積も目指す。次世代解析拠点施設と連携し、In-house Data Reference の蓄積に協力することも目指し、本研究に適した解析パイプラインを構築できる体制を整える。その実現に向けて大阪大学医学部附属病院他診療科と連携し、倫理委員会同意書統一書式や検体収集システムを構築する。

4) 循環器分野ゲノム解析コンソーシアム設立へ向けた準備体制整備

本解析研究への試料提供いただく他施設共同研究機関、難治性研究班(特発性心筋症研究班)や遺伝性循環器疾患研究機関などへ、我々が開発した解析技術の将来の供与を想定し、積極的に多施設共同研究を進めることができるよう、解析環境の整備を行う。具体的には倫理委員会書式の統一、共同研究実施機関としての登録を行うとともに、実際の症例に関して共同研究による解析を実施する。

5) 次世代ゲノム解析用情報解析システムの利用による新規遺伝子同定

次世代シーケンス解析用 Linux サーバにデータ解析専用のパイプラインを構築し、オープンソースを中心とした特殊ソフトウェアを導入し、データのクオリティチェック、リファレンスマッピング、アプリケーションごとの解析を迅速に行うことが可能な、スク립トを構築する。上記解析システムを用いながら、採取した血液サンプルからゲノム DNA を抽出し、次世代シーケンス解析を行う。

また、家系に関してはゲノムの組み換え情報も利用し、遺伝子を同定するためにマイクロサ

テライトマーカによるポジショナルクローニングも併用しながら、疾患特異的な原因遺伝子座の同定を行う。

2. ゲノム情報の臨床実用化(ゲノム創薬、診断薬開発と細胞治療への応用)

1) Genotype から Phenotype へのフィードバックによる臨床データの再検証

変異解析を行う上で表現型の明確化は同定作業の成否を決める非常に重要な過程であり、特に原因不明の心筋症などの多い本研究分野において、臨床データの再整理は欠かせない。そこで本研究において同定した心筋症発症に関わる新規遺伝子に対し、想定される疾患群、症例のゲノムを用いて、それら遺伝子変異の出現頻度について再度検証を行うとともに、類似の病型を示す臨床群における類似遺伝子変異も検索する。遺伝子変異が同定された症例と類似の臨床病型を示す症例を中心に、あらためて遺伝子変異の検定を行う。

2) 細胞モデルと遺伝性疾患動物モデル(小～大動物)による迅速な機能解析、イメージング技術による検証

難治性疾患の新規候補遺伝子として同定されたものについては、迅速に *in vivo* の機能解析実験系の STEP へ検証を進めることが重要である。ゼブラフィッシュを用いた実験系は、心臓といえどもアルビノ種を用いることにより形態観察も容易であり、効率よく解析を進めることができる。そこで本研究においては、既に解析系として研究代表者らが確立しているゼブラフィッシュ実験系を用い新規同定遺伝子の分子生物学的、生理学的解析、細胞機能解析と迅速な病態モデルのイメージング解析を行う。Dual-CCD カメラ / LED 光源装備 / 倒立型電動リサーチ顕微鏡 - 細胞機能解析装置による、世界に先駆け新規に開発実用化に成功した *in vivo* FRET プロ

ーブ - イメージング解析システムを用いて心臓機能の生体精密機能解析を行う。さらにそこで有意な機能変化を認めるものについては哺乳類における遺伝子改変心筋症マウスから大動物(イヌ)に至るまでの生理機能解析、病態解析を行う。

有意な機能変化を認めるものについては哺乳類における遺伝子改変心筋症マウスから大動物に至るまでの生理機能解析、病態解析を行う。

3) 生化学的解析法を利用した独自の生理活性物質同定および治療薬シーズ探索

本研究において同定する新規遺伝子の生理活性の有無の検索を行うと同時に、Nano-LC MS 解析による標的分子探索も並行して行う。有意な標的分子も得た場合についても今後の創薬開発を目的とした計画を進めるため、生理活性と細胞機能を評価し、Phenotype 改善効果の有無を判定し、新規蛋白、結合蛋白をリードとしたリガンドを探索する。

具体的には新規同定遺伝子の同定によるゼブラフィッシュ解析実験の開始と同時に、培養細胞、蛋白分子レベルでの検討を進め、生理活性を有する結合蛋白の同定や相互作用を有する蛋白を同定する作業を行う。独自の蛋白分離精製技術を利用し、超高感度 Nano LCMS 解析機器を用いて分子の生物学的、病態学的意義を検討する。同定した相互作用分子から、病態へ介入可能な分子修飾など、創薬へ向けた分子探索を進め、将来の臨床応用を考慮した研究へと発展させる。

4) ゲノム創薬へ向けたヒト iPS 細胞による検証を併せた治療標的リガンド開発と臨床実用化

同定し得た標的リードに対するリガンド探索を行い、創薬を目指す。同定された遺伝子変異を持つヒト細胞を用いて、病態機序および新規薬剤や既存薬の薬効評価と機能解析を行う。

原因遺伝子発端者から採血検体を得て、組織からの疾患 iPS 細胞株を樹立し、これまで構築してきた高効率心筋細胞分化系を用いて、病態機序、分子機能解析を行うとともに、既存治療薬剤の薬効評価を行う。大阪大学医学部未来医療センターの協力を得て、前項分子標的リガンドの薬剤 assay 系にも用いる。その際、同定した標的分子に対するシース化合物の探索も同時に進め、化合物を得た際には疾患 iPS 細胞を用いて同定された遺伝子変異を持つヒト細胞を用いた、病態機序および新規薬剤や既存薬の薬効評価と機能解析検討も行えるよう、創薬研究の基盤整備を行う。

(倫理)

患者情報の解析に関しては施設の倫理委員会の承認を得た上、臨床研究倫理指針を遵守し慎重におこなう。その上で患者とは個別に、医師が書面に示した計画書を明示し、十分説明をしたうえで承諾を得たもののみを本研究に使用する。特に以下の点に留意する。

試料提供者の個人識別情報を含む情報の保護：診療情報を含めた個人情報と検体とは徹底した匿名化を行い、遺伝情報と個人情報の連結は個人識別情報管理者のみが可能となるように個人識別情報管理者において情報を管理する。

試料提供者に対する予想される危険や不利益およびそれらが生じた場合の措置：心筋生検試料採取は通常の診療の際に医学的必要性に応じて行われたもののうち、診療に用いない残余検体を利用することとし、危険や不利益はないと考える。誤って遺伝情報が外部に漏洩した場合、就職・結婚・保険への加入等に関して不利益をこうむる可能性が考えられるため、これを防ぐために、個人識別情報管理者を置き、同管理者は試料の匿名化を行うとともに個人情報を

厳重に管理・保管し、試料提供者のプライバシーを保護する。

試料提供者から採取した生体材料の取り扱いについて：提供された試料は、個人識別情報管理者が連結匿名化し、匿名化ラベルのみ貼って保存する。これらの試料は、生体試料の包括利用同意を得ており、本研究だけでなく、将来倫理委員会で承認された他の自主臨床研究についても用いることが可能である。したがって検査済みの試料は、適宜連結可能匿名化番号を含む検体等を完全に削除した上で廃棄するが、使用可能な残余検体は匿名化されたまま施錠された保管場所で保管される。また、特に研究成果として得られた情報の管理には、外部に漏洩しないように対策を行う。

動物実験においても愛護上の問題点を考慮の上、施設の審査結果を本研究について得た。この倫理規定にのっとり動物愛護上の配慮を十分行って実験をおこなう。

C. 研究結果

1. 迅速なゲノム解析を実施する環境整備と実用的解析システムの構築

1) 集積された症例の独自の臨床データ解析とゲノム解析症例の選定

特異的な心不全病態を有する心筋症ゲノム解析対象症例の蓄積は計画以上に集積が進んだ。ヒトゲノム解析の説明と同意を得た心血管系難治性疾患患者を解析対象者とし、遺伝性が濃厚な家系症例から順に、心筋症・不整脈合わせて、68 家系・164 症例、の症例収集を行った。また、非家系孤発症例のうち、二次性心筋症を除外したもものから前年度蓄積分も加えて最終的には約 150 症例の症例をそれぞれ臨床検

査データとともに蓄積した。

症例提供協力施設も心筋症遺伝子解析に積極的な6大学(東京大、大阪大、滋賀医大、金沢大、奈良県立医科大、岡山大)、国立循環器病センターを中心に、倫理委員会承認を得て、症例提供地域も関連病院を中心に全国15都府県(東京、大阪、鹿児島、宮崎、福岡、広島、岡山、兵庫、奈良、和歌山、京都、滋賀、三重、静岡、新潟)に広がり、豊富な症例登録環境を構築することができた。今後も遺伝性循環器疾患を疑うものを中心に症例収集を行う。

2) 実臨床への普及実用化が可能な次世代ゲノム解析用情報解析システムのモデル化(既知未知バリエーション情報を分別する情報解析システムの構築)

本研究は未知原因遺伝子の新規変異探索を主としているため、既知原因遺伝子内の既知変異、未知変異に関する変異同定、およびその家系の除外による未知遺伝子変異を有すると推定される家系の抽出を効率良く行う事が必要である。

研究開始当初は次世代シーケンサーを用いた全 Exome 解析に関する日本の variant database が公開されていないため、先行して in-house の variant database を持つことを目的として、疾患群ではあるものの、118 症例の全 Exome 解析を行った。さらに得られた fastq ファイル形式のデータをもとに Linux サーバシステムを用いてバリエーション検出ができるパイプラインを既存のスク립トと独自開発のスク립トを組み合わせ、遺伝性心疾患既知遺伝子もリスト化した上で、心血管特異的に発現する遺伝子の同定を効率良く行うことに適したパイプラインを構築した。

既にマッピング、バリエーション検出、リードクオリティの検証などの情報解析パイプラインは既存オープンソースのスク립トに本解析に沿ったスク립トも加え、独自のパイプラインとして構築

を完了した。また、企業共同開発とともに、アンテーション以降の遺伝子機能および家系情報も含めた解析が可能となるようにした情報解析システムの構築に向けて、国際共同研究協議も開始した。

3) 拠点施設ゲノムバンク化事業に協力可能な検体収集システムの構築

循環器疾患ゲノム解析症例の蓄積のみならず、非循環器疾患症例、および家系内非発症症例を対象に、全 Exome 解析における in-house variant data の蓄積に適した症例の蓄積の実現へ向けて、大阪大学医学部附属病院他診療科と連携し、大阪大学医学部附属病院全診療科が参加し、倫理委員会同意書統一書式や検体収集システムを主導的に構築した。

大阪大学最先端医療融合イノベーションセンター・ゲノム解析コアファシリティ(新設 H26 年 2 月開館、現共同研究センター)におけるゲノム解析を実施するために、本研究チームが主導し、構築したパイプラインを移植するとともに、情報解析も担当することとなった。

4) 循環器分野ゲノム解析コンソーシアム設立へ向けた準備体制整備

本解析研究への試料提供いただく他施設共同研究機関、難治性研究班(特発性心筋症研究班)や遺伝性循環器疾患研究機関などへ、我々が開発した解析技術の将来の供与を想定し、積極的に多施設共同研究を進めることができるよう、解析環境の整備を行った。

解析機関の違いが解析条件の差に表れないように、あらかじめ世界標準かつ汎用性があるように、共通の解析条件の設定を行った。具体的には、DNA 抽出、ゲノム標的領域エンリッチメント方法・試薬、シーケンサー機種、データフォーマット形式、マッピング以降バリエーション検出までの情報解析パイプラインについて、本研究に参画する施設は、上記共通の解析フォーマット

のもとで解析を行い、施設間でデータ共有をする際の弊害を取り除くことに努めた。検体採取に際しても、倫理委員会書式の統一、倫理委員会書式内での共同研究実施機関としての登録なども行うとともに、実際の症例に関して共同研究による解析を実施した。

国内循環器ゲノム解析コンソーシアム構築にも尽力し、当初1大学、1研究機関から始めた共同研究も、開始後2年目には3大学1研究機関に増え、最終年度には6大学、1研究機関からの症例提供を受けるとともに、全国15都府県から豊富な症例紹介を受けることとなった。厚生労働省特発性心筋症研究班への技術指導・パイプラインも提供し共同研究も開始した。

また、東京大学においては、複数のゲノム解析プラットフォームについての性能比較を行った。より広い領域をターゲットする目的にはエクソーム解析にも用いられるハイブリッドキャプチャ法が向いている。PCRプライマーの設計が難しい領域もカバー出来る可能性が高いが、必要DNA量も1µg前後と多く、一般に特異性は低下する。対象疾患に応じてターゲットのカバー率、均一性、スルーットおよびコスト等を考慮し最適な解析プラットフォーム(前処理技術およびシーケンサー)を選択する必要がある。そこでFluidigm社AccessArray、Agilent社HaloPlex、Illumina社TruSeq Custom Amplicon、Life Technologies社Ion AmpliSeq等の複数の前処理手法と、Illumina社GAllx/HiSeq/MiSeq、およびLife Technologies社Ion Protonシーケンサーを活用し、これらの性能比較に着手した結果、Agilent社HaloPlexを採用し、既知変異遺伝子95遺伝子の99.43%をカバーするプローブをデザインした上で一部検体の解析作業に着手した。

さらに、大阪大学においてはMcGill University and Genome Quebec Innovation Centre、Laboratory of Statistical Genetics・Rockefeller University、Department of Molecular and Human Genetics・Baylor College

of Medicine、の3施設との共同で、新規遺伝子同定の共同研究を開始すると同時に、孤発症例を対象としたExome解析パイプラインの新規プログラムを開発した(論文投稿中)。

5) 次世代ゲノム解析用情報解析システムの利用による新規遺伝子同定

次世代解析拠点施設と連携し、in-house variant dataの蓄積にも協力しながら、本研究に適したLinuxによるスクリプトを構築できるように、解析協力体制を敷くようにした。倫理委員会などの事務手続きを進めIn-house reference variant dataの共有を行い、パイプラインに組み込んだ。

次世代シーケンス解析用Linuxサーバーに、全疾患に共通のデータ解析専用のパイプラインをベースに、特に心血管疾患を解析する場合に適するよう、循環器専用のスクリプトも組み込んだパイプラインを構築した。オープンソースを中心としつつ、本解析用に新たに開発するソフトも合わせて、独自のパイプラインとして連結した。データのクオリティチェック、リファレンスマッピング、アプリケーションごとの解析を迅速に行うことが可能なパイプラインを構築し膨大なデータ解析に対応できる情報解析システムを本研究に導入した。

上記解析システムを用いながら、採取した血液サンプルからゲノムDNAを抽出し、次世代シーケンス解析を行い、家系症例を対象にMicrosatellite markerを用いた連鎖解析を行うことで、難治性不整脈の家系の疾患原因遺伝子として新規遺伝子を一つ同定した(未公表データ)。配列解読、配列解析(マッピング、バリエーション検出)を終えた家系は2年目終了時点で26家系94症例となり、最終年度終了時点で68家系164症例となった。情報解析中の家系においても、Co-segregationを確認しながら、幾つかの家系症例について候補遺伝子の絞り込み作業を開始している。

2. ゲノム情報の臨床実用化(ゲノム創薬、診断薬開発と細胞治療への応用)

1) Genotype から Phenotype へのフィードバックによる臨床データの再検証

遺伝型を解析する上で表現型の明確化は同定作業の成否を決める非常に重要な過程であり、特に原因不明の心筋症などの多い本研究分野において、臨床データの充実とゲノム情報を基にした臨床データの再整理は欠かせない。

そこで平成 23-24 年度に同定した心筋症発症に関わる新規遺伝子 ~ の3遺伝子(いずれも論文未発表のため仮称 ~ とする)に対し、症例と類似の病型を示す臨床群を対象に、類似遺伝子変異を検索するとともにその機能解析を行った。

新規同定心不全関連遺伝子を基礎的検討から導き出し、それを候補として既に蓄積している心筋症家系ゲノムを用いて、候補遺伝子解析を行ったところ、2家系について新規変異を同定した。同家系について全 Exome 解析を行い、既知遺伝子に発症の原因を示唆する変異を認めないことも合わせて確認した。

上記とは別に、H23 年度に同定した心不全発症に関わる新規遺伝子 (論文準備中)については、関連疾患群における functional SNP の有無、原因遺伝子となる新規家系の有無を検索した。現時点でそれら家系の中に新規変異は認められておらず、今後さらに家系を広げて探索を行う予定である。

また、難治性不整脈の家系の疾患原因遺伝子として新規遺伝子 (論文投稿中)を同定した。心筋細胞を用いた機能解析を行うとともに、Xenopus を用いたパッチクランプによる機能解析も実施、該当不整脈の原因遺伝子としての機能変化を証明することができた。当初の家系症例とは別に同様の変異の有無を検索するために、類似病型を示すヒト臨床症例群を対象に、類縁遺伝子も含めた遺伝子変異スクリーニング

を行ったところ、家族発症を認める別家系において、本遺伝子の別の non-synonymous 変異を同定することができた。同変異による分子機能変化を調べるため、パッチクランプによる機能解析を行ったところ、ヒト表現型を再現する機能変化を有することを確認した。

2) 細胞モデルと遺伝性疾患動物モデル(小～大動物)による迅速な機能解析、イメージング技術による検証

難治性疾患の新規候補遺伝子として同定された遺伝子、すなわち平成 23-24 年度に同定した3種類の新規遺伝子、
、
、
に対して、ゼブラフィッシュ、遺伝子改変心筋症マウス、大動物(イヌ)心不全モデルを用いて分子生物学的、生理学的解析な分子機能解析と迅速病態解析、イメージング解析を行った。

ゼブラフィッシュ実験系について、Dual-CCD カメラ / LED 光源装備 / 倒立型電動リサーチ顕微鏡 - 細胞機能解析装置による、世界に先駆け新規に開発実用化に成功した in vivo FRET プローブ - イメージング解析システムを用いて心臓機能の生体精密機能解析を行い、心筋症関連遺伝子については、心筋代謝変化を示す in vivo live imaging の撮影に成功した。

新規遺伝子 については、ゼブラフィッシュ実験系を用い新規同定遺伝子の分子生物学的、生理学的解析、細胞機能解析と迅速な病態モデルのイメージング解析として有用であることが解り、さらに大動物で検証するために虚血再灌流モデルを用いた解析も行い、同遺伝子の発現変化も確認した。

新規遺伝子 については不整脈関連遺伝子であり、細胞実験系のみならず、アフリカツメガエルを用いたパッチクランプ法、ゼブラフィッシュを用いた心臓不整脈表現型を解析し、ヒト臨床表現型との相同性を確認した。

新規遺伝子 は、これもヒトでは初めての指摘であり、培養心筋細胞、ゼブラフィッシュを用

いた機能解析実験を終了した。

3) 生化学的解析法を利用した独自の生理活性物質同定および治療薬シーズ探索

上記新規同定遺伝子の生理活性の有無の検索を主に新規遺伝子 およびその類縁遺伝子について行うと同時に、Nano-LC MS 解析による相互作用を持つ標的分子探索も並行して行った。得られた現象をもとに物質特許申請を行うとともに、構造解析と創薬標的としての可能性に関する検討に入った。

新規遺伝子 について、既に有意な標的分子を得て企業共同研究について、今後の創薬開発を目的とした検討協議を開始している。本遺伝子蛋白をシーズとして開発された化合物を用いた機能解析を行う準備を進めている。

新規遺伝子 についても、生理活性と細胞機能を評価し、Phenotype 改善効果の有無を判定した。新規蛋白、結合蛋白をリードとしたリガンドを探索を開始すべく、阪大産学連携共同創薬開発研究について具体的な方法の選定をすませ、リード化合物ライブラリーからの探索スクリーニングの準備に入った。

4) ゲノム創薬へ向けたヒト iPS 細胞による検証を併せた治療標的リガンド開発と臨床実用化

原因遺伝子発端者組織から iPS 細胞を樹立し、独自の高效率心筋細胞分化系を用いて、病態機序、分子機能解析を行うため、承諾を得た家系に対しての iPS 細胞作製について技術を用いて平成 24 年度に 8 例の細胞株を、平成 25 年度時点で最終的に計 12 症例の細胞株の樹立ないし樹立を開始した。

また、健常者および症例から樹立した iPS 細胞から心筋細胞を分化誘導し、細胞の形態、分子シグナル、電気生理特性、収縮特性等の分子機能・生理機能の解析実験基盤を確立し病態発症機構の解明を行っている。また、表現型が明らかな一部症例については創薬に向けた

ハイコンテンツスクリーニング系を構築し、市販ライブラリーを用いたスクリーニングに着手した。

新規遺伝子 および新規遺伝子 を有する家系を対象に、iPS 細胞株樹立へ向けた患者説明、交渉を開始した。本遺伝子蛋白をシーズとして開発された化合物を用いた機能解析を行うため、化合物の入手および培養細胞実験における変化を培養細胞における検討を行う準備を開始するとともに、iPS 細胞でも行う事ができるよう実験準備を行っている。

D. 考察

1. 迅速なゲノム解析を実施する環境整備と実用的解析システムの構築

1) 集積された症例の独自の臨床データ解析とゲノム解析症例の選定

国内、遺伝性を示す 164 症例を詳細な家系情報とともに集積することができた。蓄積にあたっては本研究をきっかけとして、心筋症、不整脈病院臨床部門ハートセンター(循環器内科・心臓血管外科)に加えて、小児科(循環器)の協力も得て、症例の蓄積が進めることができた。学内の倫理申請書類、配列解析プロトコルを共同研究共通化することにより、データ関比較も可能な均質な学内データベースを作成することができた。

全 Exome 解析を行う症例の選択には慎重を期している。本研究においては臨床診断上、遺伝性関与の可能性が高いもの、二次性心筋症の除外をエントリーの条件としているため、多くの対象者を持ちながら、集約的な同意書の取得による効率的な解析を実施が可能となっている。最重症心不全症例(心臓移植、最新型人工心臓、高度先進医療)の多くの経験をもとに臨床病態評価システムを確立し、臨床検査データと

生体試料、血清組織バンクを連結させてゲノム解析に用いる詳細な表現型を規定することで、難治性疾患解析の精度を高めることができた。臨床と基礎両面から本研究課題は取り組んでいるため、今後次世代シーケンスによる遺伝子解析を必要とする症例について臨床現場からのニーズと、将来の臨床実施に際しての運用上の問題点についても経験値を高めた形で、問題点を克服していくことが可能である。

さらに当研究機関以外の他研究機関、診療施設からの症例紹介も受けられるように倫理委員会手続きが完了し、それを利用した症例紹介も増えつつある。紹介元研究施設で倫理委員会の審査を受けられる施設においても、本研究との共同研究が可能なるよう申請準備に関するコンサルテーションも受け付けている。

これら症例の蓄積が進むことによりin house genome referenceを構築するための症例蓄積にも合目的であり、将来有用性の高いシステムの構築が可能である。

2) 実臨床への普及実用化が可能な次世代ゲノム解析用情報解析システムのモデル化(既知未知バリエーション情報を分別する情報解析システムの構築)

次世代シーケンス解析用の日本人バリエーションデータベースが利用可能ではない現況において、発端者のExome解析と既存パイプラインによる同疾患感受性の既知バリエーションの検出、およびコモンバリエーションの除外は、効率良く未知疾患原因遺伝子を同定する上では非常に重要なSTEPとなる。

そこで次世代シーケンサーを用いた全Exome解析に関する日本のvariant databaseが公開されていない段階で初期よりin-houseのvariant database構築も見据えた症例検体の蓄積を行ったことは本研究を進める上で大きな力となった。

また、既存市販のソフトウェアではなく、独自にLinuxシステムによるバリエーション検出パイプ

ライン開発構築していたことにより、日本人にしかない特異的な遺伝子配列変異を導き出すことが可能であった。

マッピング、バリエーション検出、リードクオリティの検証などの情報解析パイプラインは構築を完了し、これからさらに独自性を高めたアノテーションパイプラインの開発を行う予定としており、それらが完成すれば、近い将来の日本人バリエーションデータベースの公開利用の時期も近いことから、遺伝子機能および家系情報も含めた精度の高い情報解析が可能となると考えられる。

日々、急速に進歩するゲノム解析技術を考慮の上で、最先端ハイエンドモデル、デスクトップモデルなどの機能、能力をフルに活用すべく、複数の解析プラットフォームについての性能比較を実施した。遺伝性疾患にはミトコンドリア遺伝子変異を原因とするものが少なくないが、核遺伝子とミトコンドリア遺伝子を同時に効率よく濃縮する方法についてもさらなる検討が必要である。機種バージョン、解析手法の変化に左右されることなく、ノウハウを維持、シーケンス解析の最適化に努める必要がある。今回、解析マテリアルの収集と情報解析のアップデートに最大の資源を投じることによって、本研究の特性を一層強めることができたものと考えられる。

3) 拠点施設ゲノムバンク化事業に協力可能な検体収集システムの構築

本研究のみにゲノム情報を利用するだけでなく、得られた貴重な情報を広く循環器研究領域に公開利用、応用ができるように、本施設で採取するゲノム検体には、ゲノム・遺伝情報の外部機関への寄託の可否も合わせて説明を行っている。

さらに年度中期(H24年9月)から年度末(H25年3月)にかけて、循環器疾患ゲノム解析症例の蓄積のみならず、非循環器疾患症例、および家系内非発症症例を対象に、全 Exome

解析の実施と in-house variant data のプロファイリング可能なように大阪大学医学部附属病院全診療科(26診療科)と共同連携し、倫理委員会同意書統一書式や検体収集システムを構築できるように先導してきた。その結果、H25年5月より同書式を用いたゲノム解析研究が可能となった。今後の他研究機関におけるゲノム研究でも、同様のシステムが利用できる予定である。

このようなシステムは今後の次世代ゲノム解析には必須のものであり、本研究に限らず広く応用の効くものであると考えている。

4) 循環器分野ゲノム解析コンソーシアム設立へ向けた準備体制整備

解析環境の整備を行い、共同研究先ないし試料提供を受ける他施設共同研究機関へ、我々が開発した解析技術を積極的に共有することで、多施設共同研究を進めることができるようになった。

その際に一番注意を払ったことは、解析研究実施施設の違いにより、シーケンスおよび情報解析条件の差が生じ、後日データの統合ができないようになるのを防ぐことである。あらかじめ広く受け入れられやすく、質の高い解析条件の設定を行うことで、その点も乗り越えることができた。その結果、国立循環器病センター、東京大学(大阪大学と合わせて、これら3施設で心臓移植の80%近くの実施数を持つ)、ほか大学循環器内科3施設の連携協力も始まり、厚労省特発性心筋症研究班(国立循環器病センター)への技術指導・パイプラインも提供し共同研究も開始できることとなった。当初の目的が達成できつつあることを示していると考えらる。

5) 次世代ゲノム解析用情報解析システムの利用による新規遺伝子同定

我々が開発した解析技術は共同研究機関とも既に積極的に共有できているが、将来循環器

ゲノム研究コンソーシアム全体に公開できるようにするために、データのクオリティチェック、リファレンスマッピング、アプリケーションごとの解析を迅速に行うことが可能なパイプラインを構築し膨大なデータ解析に対応できる情報解析システムを本研究に導入することができた。

その情報解析システムが実際に有効な解析ができるかについて確認を行う作業が主たる研究目標であり、実際に118症例のExome情報解析結果から、効率良く心筋症既知遺伝子内の疾患責任既知変異、未知変異の振り分け作業もスムーズに進み、家系内複数発症例における家系情報も加味した解析による絞り込み作業も本システムで対応可能なことが証明された。

in-house variant data のみならず、次世代解析拠点施設からの次世代シーケンス解析用日本人バリエーションデータベースが公開された際には、本研究情報解析パイプラインの特性がさらに発揮でき、精度の向上を図ることができるものと期待される。

同定した新規遺伝子3種類について、その他の家系情報の検索、現在もなお蓄積されつつある in-house variant data への照会作業などが効率良く進んでおり、今後は新規解析家系のデータ解析の自動化をより一層推し進めるとともに、アノテーションパイプラインによる最終絞り込み作業の更なる効率化を図れるよう、新しい解析プログラムの開発を推進することができた。

2. ゲノム情報の臨床実用化(ゲノム創薬、診断薬開発と細胞治療への応用)

1) Genotype から Phenotype へのフィードバックによる臨床データの再検証

同定した心筋症発症に関わる新規遺伝子3遺伝子(論文未公表データ)に対し、1)疾患責任遺伝子としての妥当性の検証、機能性変異

同定による創薬標的探索の基礎データ取得、疫学的重要性の検証、などを明らかにするために、類似の病型を示す臨床群における類似遺伝子変異も検索することができた。現在もなおゲノムバンクへの蓄積が進み再解析の対象となる症例数が増えており、それぞれの遺伝子について複数例の家系情報を入手することが可能となる見込みである。

一方で、同定作業を確実にするには未だ家系症例の充実と連鎖解析も含めた領域絞り込み作業が重要であることも事実である。そのため、心筋症・不整脈疾患含めてそれぞれ臨床病態・表現型の明確化は同定作業の成否を決める非常に重要な過程であることを再認識の上、臨床データプロファイルの蓄積に関しても次年度も引き続き積極的に充実させていくことが必要であると考えられた。

2)細胞モデルと遺伝性疾患動物モデル(小～大動物)による迅速な機能解析、イメージング技術による検証

研究開発段階にある新薬候補をスクリーニングし、その有効性や安全性を探索する上で、開発確度を高めるためには、短期目標から長期に向けた目標設定を明確にすることが必要である。本研究では、希少マテリアルの蓄積と、迅速な基礎的検討による知財根拠の取得、そして特異的な実験系による生物学的機能解析系を有しており、一つの利点として挙げられる。同定した3遺伝子に対し、ゼブラフィッシュ実験系を用いた分子生物学的、生理学的機能解析と迅速な病態モデルのイメージング解析を行うことができた。アルビノ種を用いることにより形態観察も容易であり、効率よく解析を進めることができるため、Dual-CCD カメラ/LED 光源装備/倒立型電動リサーチ顕微鏡 - 細胞機能解析装置による、世界に先駆け新規に開発実用化に成功した in vivo FRET プローブ - イメージング解析システムを用いた実験系は、心臓機能の

生体精密機能解析に非常に適していることが分かった。有意な機能変化を認めるものについては哺乳類における遺伝子改変心筋症マウスから大動物に至るまでの生理機能解析、病態解析を行うことも可能であり、今後の難治性疾患の新規候補遺伝子として同定されたものについても同様、迅速に in vivo の機能解析実験系の STEP へ検証を進める予定である。

3)生化学的解析法を利用した独自の生理活性物質同定および治療薬シーズ探索

研究開発段階にある新薬候補をスクリーニングし、その有効性や安全性を探索する上で、開発確度を高めるためのもう一つの重要な点は、特異的な実験系の上で、high throughput screening から hit 化合物の同定、chemical probe の合成、in vitro / in vivo 薬理実験系、動物を用いた in vivo POC を経て行われる Lead Optimization までを想定した戦略立った開発の取り組みが必要である。新規に同定した心筋症発症に関わる新規遺伝子3遺伝子に関しても、生理活性の有無の検索を行うと同時に、独自の蛋白分離精製技術を利用し、超高感度 Nano LCMS 解析機器を用いての標的分子探索も並行して行うことができた。

培養細胞、蛋白分子レベルでの検討を進め、生理活性を有する結合蛋白の同定や相互作用を有する蛋白を同定する作業を行うことで、生物学的、病態学的意義を検討に留まらず、創薬標的分子の選択も広がり将来の臨床応用を考慮した研究へと発展させることが可能である。

実際に幾つかの分子についてはリード化合物の探索 STEP へとプロジェクトを進めることができおり、本システムが効率良く稼働していることを示している。

4)ゲノム創薬へ向けたヒト iPS 細胞による検証を併せた治療標的リガンド開発と臨床実用化

原因遺伝子発端者由来の疾患 iPS 細胞株の

樹立は、それを用いた特異的実験系を組むことができれば、従来の培養細胞を用いた生理実験、in vitro / in vivo 薬理実験、動物生体実験、ヒト臨床試験への橋渡しとして、効率良くかつ精度を高めた同定した遺伝子の機能解析を行うことができると考えられる。

これまで構築してきた高効率心筋細胞分化系を用いて、病態機序、分子機能解析を行うとともに、既存治療薬剤の薬効評価を行う。大阪大学医学部未来医療センターの協力を得て、前項分子標的リガンドの薬剤 assay 系にも用いる準備を進めている。

同定した標的分子に対して、シーズ化合物の探索も同時に進め、または既に得た化合物を用いて、疾患 iPS 細胞による、新規薬剤開発検討および薬効評価に関する検討を進めており、次世代シーケンサーを用いた、ゲノム解析による創薬基盤研究整備を行う上でも、非常に重要な実施モデルとなると考えられる。

<評価>

1) 達成度について

本研究開始に際して、掲げた ~ の目標について、順番に達成度を評価する。

実臨床への普及実用化が可能なゲノム解析システムのモデル化

当初8家系50症例の解析を目標に始めた研究であったが、6大学1研究機関、15都府県からの検体解析を行い、最終的には総計68家系、164症例の検体集積と、118症例のExome解析を実施することができた。

遺伝性心血管疾患の次世代ゲノム解析を行う上で、循環器疾患に適した情報解析を行うために、世界標準に合った汎用性の高いオープンソフトウェアを元に、循環器疾患に対応した独自の情報解析パイプラインを構築し、一部移植可能な共同研究機関にも同パイプラインの移植を

行い、共同解析を実施した。

次世代遺伝子解析による新規遺伝子同定

3年間の中で、希少難治疾患の原因遺伝子同定とその疾患発症機序の解明を行うことを目標とし、2つの新規遺伝子を同定するとともに、1つの新規疾患候補遺伝子に着目することができた。それらのうち、2つは創薬標的探索のため企業との共同研究にすすみ、化合物に関する情報を得るに至った。一つは分子構造解明のため、結晶構造解明の段階に入っている。各分子について、知財管理も実施し、特許申請を実施済みである。

GenotypeからPhenotypeへのフィードバック解析

研究開始当初から、遺伝性心筋症の臨床データベースとの連結可能匿名化につとめ、Exome解析結果と各心疾患関連遺伝子変異を統合した解析が可能なシステムを構築した。

細胞モデルと遺伝性疾患動物モデルによるin vivo検証の迅速化

ゼブラフィッシュにより遺伝子変異の迅速スクリーニングを常時行うことができるようにすることで、候補となる遺伝子のスクリーニング生体機能解析が可能となった。本実験系を用いて、同定した新規遺伝子 ~ についての生体機能解析を実施することができた。

生理活性物質同定および治療薬シーズ探索

新規遺伝子 については類縁遺伝子の機能解析を同時に進め、類縁遺伝子の生理活性が強いことを確認するとともに、ラマン分光法による構造変異の同定を済ませ、分子単離精製による結晶構造解析へと進めている。今後は、同分子に対する相互作用化合物の同定へと研究を展開する予定である。新規遺伝子 については、既存化合物との相互作用があることがわか

り、同研究を進めている企業との共同研究交渉を進めている。新規遺伝子 については特許の取得のもとに1企業、1研究機関との相互作用化合物、ペプチド化合物の同定作業に入った。

ゲノム創薬、治療標的リガンド開発と臨床実用化へ向けた検証

独自の高效率心筋細胞分化系を用いて、病態機序、分子機能解析を行うため、原因遺伝子発端者組織から iPS 細胞作製について技術を用いて、承諾症例の iPS 細胞株を樹立を開始した。分子シグナル、電気生理特性、収縮特性等の分子機能・生理機能の解析実験基盤を整備し、病態発症機構の解明および創薬に向けた実験を開始している。新規遺伝子 および新規遺伝子を有する家系を対象に、iPS 細胞株樹立へ向けた患者説明、交渉を開始した。

本遺伝子蛋白をシーズとして開発された化合物を用いた機能解析を行うため、化合物の入手および培養細胞実験における変化を培養細胞における検討を行う準備を開始するとともに、iPS 細胞でも行う事ができるよう実験準備を行った。

以上の項目 ~ に挙げたように、全ての項目において当初の目標通り、または、解析症例数および同定遺伝子数については目標以上に達成するとともに、創薬に向けた特許取得、企業共同研究へと進めることができ、総合的に見て当初の目標以上の成果を出すことができた。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

本研究において構築した情報解析パイプラインは広く汎用性が高く、循環器領域の遺伝子解析研究を行う研究機関でも今後のフォーマット統一化を図ることが良いと考えられるため、日本循環器学会を中心として、本解析コンソーシアムを今後も広げて行く。平成26年3月には日

本循環器学会でゲノム解析に関するシンポジウムで発表するとともに、直後に開かれる難治性研究班員を主体としたトランスレーショナルリサーチミーティングで、新規遺伝子 に関する患者レジストリ、化合物を用いた臨床研究に関するミーティングを開くこととなっている。以上のように本研究成果により、実臨床への展開を含めた創薬事業の開始も間近になることとなり、疾患研究、臨床ともに大きな貢献を行う事ができた。また、新規遺伝子に関する研究発表を順次行っていくこととなっており、国際的にも情報発信に努める。

さらに、情報解析システムの世界標準化を試みるために大阪大学と、ゲノム解析の最先端研究を行っている海外の研究機関 (McGill University and Genome Quebec Innovation Centre、Laboratory of Statistical Genetics・Rockefeller University) との間で、大阪大学からの発案で開始された、情報解析パイプラインの国際共同開発研究は、まさに進行中であり、現在統計学的優位性の検証に入っている。近い将来検証作業が済み次第公表できるものと考えられる。画期的なプログラムになることが予想される。

3) 今後の展望について

同定した新規遺伝子 ~ について、それぞれの疾患に対する創薬リガンドの探索研究を進める。具体的には、新規遺伝子 は構造解析を優先して進め、新規遺伝子 は既に企業は検討に入っている化合物であるため、共同研究、治験研究への展開を進める。新規遺伝子 については、相互作用化合物のライブラリースクリーニングを実施し、生理活性作用のあるリガンド化合物の探索を進める。

4) 研究内容の効率性について

短期間の研究であったが、予定の2倍近い解析症例数、3つの新規遺伝子・類縁遺伝子の同定、それら全てにおいて企業共同研究の開始、

国際共同研究による、新規遺伝子解析プログラムの開発と、多くの成果を残すことができた。既に臨床試験間近に迫るほどに展開できている遺伝子も有しており、その意味で客観的に見て非常に高い効率の成果を残すことができたと考えられる。これからの論文公表、特許公開、学会発表などにおいて順次情報発信によりその成果を実証できるものと考えられる。

E. 結論

1. 迅速なゲノム解析を実施する環境整備と実用的解析システムの構築

1) 集積された症例の独自の臨床データ解析とゲノム解析症例の選定

病院臨床部門ハートセンター内の症例蓄積が稼働し循環器内科・心臓血管外科に加えて、小児科循環器分野の協力も得て大阪大学全体での循環器症例の系統だった症例蓄積が行えるようになった。

症例選択にあたっては、最重症心不全症例(心臓移植、最新型人工心臓、高度先進医療)の多くの経験をもとに臨床病態評価システムを確立し、臨床検査データと生体試料、血清組織バンクを連結させて詳細な表現型を基準に選定することができる。

学内の倫理委員会書類および配列解析プロトコール、情報解析システムの共通化は、将来比較解析も容易可能な学内ゲノムデータベースの作成に寄与できる。

共同研究、試料提供の範囲を広げるため、他研究機関、診療施設からの症例紹介受付、および共同研究、倫理申請に関するコンサルテーションも開始した。

症例蓄積はin house genome referenceを構築する上でも有用性が高く、将来利用価値の高いゲノム解析システムの構築に資する。

2) 実臨床への普及実用化が可能な次世代ゲノム解析用情報解析システムのモデル化(既知未知バリエーション情報を分別する情報解析システムの構築)

(既知未知バリエーション情報を分別する情報解析)

最先端ハイエンドモデルの解析能力を最大限活用するとともに、マッピング、バリエーション検出、リードクオリティの検証などの情報解析パイプラインの構築が完了した。

次世代シーケンス解析用の日本人バリエーションデータベースはまだ利用できない環境にあるが、既知未知バリエーション情報を分別するため、独自に開発したLinuxシステム下に稼働するバリエーション検出パイプラインを用いて、同疾患感受性の既知バリエーションの検出、およびコモンバリエーションの除外を行うことができた。さらに今後も症例検体の蓄積を継続し、in-houseのvariant databaseの構築を進めるとともに、独自性を高めたアプリケーションパイプラインの開発を行うことで、急速に進歩するゲノム解析に対応する。

情報解析手法を更新し、シーケンス解析のコスト低減に努め、解析マテリアルの収集と情報解析のアップデートに特化した研究を進める方針については、次年度も継承する。

3) 拠点施設ゲノムバンク化事業に協力可能な検体収集システムの構築

本施設で採取するゲノム検体には、ゲノム・遺伝情報の外部機関への寄託も可能な検体バンクを構築した。本研究のみにゲノム情報を利用するだけでなく、循環器研究領域のみならず、広くゲノム研究全体での情報共有が可能となる。

さらに次年度に向けて循環器疾患ゲノム解析症例の蓄積だけでなく、非循環器疾患症例、および家系内非発症症例を対象にした症例蓄積が可能となった。大阪大学医学部附属病院全診療科(26診療科)と共同連携し、倫理委員

会同意書統一書式や検体収集・利用を視野に入れたシステムを構築した。

4) 循環器分野ゲノム解析コンソーシアム設立へ向けた準備体制整備

我々が開発した解析技術を共有の上、多施設共同研究を進めることを目指した、解析環境の整備を行った。配列解析および情報解析の統一フォーマットを策定し、大阪大学、国立循環器病センター、東京大学の3施設および他大学循環器内科3施設の連携協力が始まった。

厚労省特発性心筋症研究班(国立循環器病センター)への技術指導・パイプラインの提供も行った。

5) 次世代ゲノム解析用情報解析システムの利用による新規遺伝子同定

データのクオリティチェック、リファレンスマッピング、アプリケーションごとの解析を迅速に行うことが可能なパイプラインを組み込んだ情報解析システムを完成させた。

循環器疾患症例およびその家系 118 症例の Exome 情報解析を実施し、心筋症既知遺伝子内の疾患責任既知変異、未知変異の鑑別情報解析、家系内複数発症例を用いた候補遺伝子の絞り込み解析を実施した。新規に同定した新規遺伝子3種類について、現時点での当施設内 in-house variant database への照会作業を実施した。最終絞り込み作業の更なる効率化を図れるように、アノテーションパイプラインの開発を開始した。

2. ゲノム情報の臨床実用化(ゲノム創薬、診断薬開発と細胞治療への応用)

1) Genotype から Phenotype へのフィードバックによる臨床データの再検証

家系症例の充実と連鎖解析も含めた領域絞

り込みも視野に入れる必要がある。心筋症・不整脈疾患含めてそれぞれ臨床病態・表現型の明確化をはかるとともに、同定作業の成否を決める症例数の増加に今後も努める。

同定した循環器疾患発症に関わる新規遺伝子3遺伝子に対しては、疾患責任遺伝子としての妥当性の検証、機能性変異同定による創薬標的探索の基礎データ取得、疫学的重要性の検証、などを明らかにするために、類似の病型を示す臨床群における類似遺伝子変異を検索した。

2) 細胞モデルと遺伝性疾患動物モデル(小～大動物)による迅速な機能解析、イメージング技術による検証

同定した3遺伝子に対し、ゼブラフィッシュ実験系を用いた分子生物学的、生理学的機能解析と迅速な病態モデルのイメージング解析を行った。

希少マテリアルの蓄積と、迅速な基礎的検討による知財根拠の取得、そして特異的な実験系による生物学的機能解析を継続して行うことが必要である。

新規遺伝子 については、分子生物学的、生理学的解析、細胞機能解析を終え、病態モデルイメージング解析の実施と大動物実験における検証に進んだ。新規遺伝子 については分子病態から類推される機序はヒト臨床表現型との相同性を有することも確認できた。

今後も効率よく解析を進める実験系として確立した Dual-CCD カメラ / LED 光源装備 / 倒立型電動リサーチ顕微鏡 - 細胞機能解析装置による、新規開発した in vivo FRET プローブ - イメージング解析システムを用いた心臓機能の生体精密機能解析を積極的に進め、迅速な in vivo の機能解析から、創薬探索への検討へ発展を目指す。

3) 生化学的解析法を利用した独自の生理活性

物質同定および治療薬シーズ探索

同定した心筋症発症に関わる新規遺伝子3遺伝子に関して、開発確度を高めるため、high throughput screening から hit 化合物の同定、chemical probe の合成、in vitro / in vivo 薬理実験系、動物を用いた in vivo POC を経て行われる Lead Optimization までを想定した戦略立った開発の取り組みを開始した。

新規遺伝子 およびその類縁遺伝子について Nano-LC MS 解析による相互作用を持つ標的分子探索、構造解析と創薬標的としての可能性に関する検討、新規遺伝子 については、化合物の選定と今後の創薬開発を目的とした検討協議を開始した。さらに新規に同定した心筋症原因遺伝子についても、リード化合物ライブラリーからの探索スクリーニングの準備に入った。

4) ゲノム創薬へ向けたヒト iPS 細胞による検証を併せた治療標的リガンド開発と臨床実用化

探索化合物を用いた機能解析を行うための実験準備とともに、新規遺伝子 および新規同定心筋症原因遺伝子を有する家系への次世代ゲノム解析の継続と、iPS 細胞株化への準備を開始した。

同定した標的分子に対して、シーズ化合物の探索も同時に進め、または既に得た化合物を用いて、疾患 iPS 細胞による、新規薬剤開発検討および薬効評価に関する検討は盤研究整備を行う上でも、非常に重要な実施モデルとなると考えられる。

F. 健康危険情報

現在まで有害の事象なし

G. 研究発表

1、論文発表

(英文原著)

- 1) Kioka H, Kato H, Fujikawa M, Tsukamoto O, Suzuki T, Imamura H, Nakano A, Higo S, Yamazaki S, Matsuzaki T, Takafuji K, Asanuma H, Asakura M, Minamino T, Shintani Y, Yoshida M, Noji H, Kitakaze M, Komuro I, Asano Y (corresponding author), Takashima S. Evaluation of intramitochondrial ATP levels identifies G0/G1 switch gene 2 as a positive regulator of oxidative phosphorylation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Jan 7;111(1):273-8.
- 2) Matsuoka K, Asano Y (corresponding author), Higo S, Tsukamoto O, Yan Y, Yamazaki S, Matsuzaki T, Kioka H, Kato H, Uno Y, Asakura M, Asanuma H, Minamino T, Aburatani H, Kitakaze M, Komuro I, Takashima S. Noninvasive and quantitative live imaging reveals a potential stress-responsive enhancer in the failing heart. FASEB J. 2014 Jan 3. [Epub ahead of print] in press.
- 3) Imai A, Gotoh K, Asano Y (corresponding author), Yamada N, Motooka D, Fukushima M, Kanzaki M, Ohtani T, Sakata Y, Nishi H, Toda K, Sawa Y, Komuro I, Horii T, Iida T, Nakamura S, Takashima S. Comprehensive metagenomic approach for detecting causative microorganisms in culture-negative infective endocarditis. Int J Cardiol. 2014 Jan 8. in press.
- 4) Kikuchi Y, Tsuji E, Yagi K, Matsusaka K, Tsuji S, Kurebayashi J, Ogawa T, Aburatani H, Kaneda A. Aberrantly methylated genes in human papillary thyroid cancer and their association with BRAF/RAS mutation. Front Genet. 2013 Dec 5;4:271.
- 5) Johnson BE, Mazor T, Hong C, Barnes M, Aihara K, McLean CY, Fouse SD,

- Yamamoto S, Ueda H, Tatsuno K, Asthana S, Jalbert LE, Nelson SJ, Bollen AW, Gustafson WC, Charron E, Weiss WA, Smirnov IV, Song JS, Olshen AB, Cha S, Zhao Y, Moore RA, Mungall AJ, Jones SJ, Hirst M, Marra MA, Saito N, Aburatani H, Mukasa A, Berger MS, Chang SM, Taylor BS, Costello JF. Mutational Analysis Reveals the Origin and Therapy-Driven Evolution of Recurrent Glioma. *Science*. 2013 Dec 12. [Epub ahead of print]
- 6) Aihara K, Mukasa A, Gotoh K, Saito K, Nagae G, Tsuji S, Tatsuno K, Yamamoto S, Takayanagi S, Narita Y, Shibui S, Aburatani H, Saito N. H3F3A K27M mutations in thalamic gliomas from young adult patients. *Neuro Oncol*. 2013 Nov 26.
- 7) Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, Okuno Y, Bacher U, Nagae G, Schnittger S, Sanada M, Kon A, Alpermann T, Yoshida K, Roller A, Nadarajah N, Shiraishi Y, Shiozawa Y, Chiba K, Tanaka H, Koeffler HP, Klein HU, Dugas M, Aburatani H, Kohlmann A, Miyano S, Haferlach C, Kern W, Ogawa S. Landscape of Genetic Lesions in 944 Patients with Myelodysplastic Syndromes. *Leukemia*. 2013 Nov 13. doi: 10.1038/leu.2013.336. [Epub ahead of print]
- 8) Kon A, Shih LY, Minamino M, Sanada M, Shiraishi Y, Nagata Y, Yoshida K, Okuno Y, Bando M, Nakato R, Ishikawa S, Sato-Otsubo A, Nagae G, Nishimoto A, Haferlach C, Nowak D, Sato Y, Alpermann T, Nagasaki M, Shimamura T, Tanaka H, Chiba K, Yamamoto R, Yamaguchi T, Otsu M, Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Nakamaki T, Ishiyama K, Nolte F, Hofmann WK, Miyawaki S, Chiba S, Mori H, Nakauchi H, Koeffler HP, Aburatani H, Haferlach T, Shirahige K, Miyano S, Ogawa S. Recurrent mutations in multiple components of the cohesin complex in myeloid neoplasms. *Nat Genet*. 45(10):1232-7. 2013
- 9) Sato Y, Yoshizato T, Shiraishi Y, Maekawa S, Okuno Y, Kamura T, Shimamura T, Sato-Otsubo A, Nagae G, Suzuki H, Nagata Y, Yoshida K, Kon A, Suzuki Y, Chiba K, Tanaka H, Niida A, Fujimoto A, Tsunoda T, Morikawa T, Maeda D, Kume H, Sugano S, Fukayama M, Aburatani H, Sanada M, Miyano S, Homma Y, Ogawa S. Integrated molecular analysis of clear-cell renal cell carcinoma. *Nat Genet*. 45(8):860-7. 2013
- 10) Shimizu I, Yoshida Y, Katsuno T, Tateno K, Okada S, Moriya J, Yokoyama M, Nojima A, Ito T, Zechner R, Komuro I, Kobayashi Y, Minamino T. p53-induced adipose tissue inflammation is critically involved in the development of insulin resistance in heart failure. *Cell Metab* 15:51-64, 2012.
- 11) Fukushima N, Matsuura K, Akazawa H, Honda A, Nagai T, Takahashi T, Seki A, Murasaki KM, Shimizu T, Okano T, Hagiwara N, Komuro I. A crucial role of activin A-mediated growth hormone suppression in mouse and human heart failure. *PLoS One*. 6:e27901, 2012.
- 12) Hara M, Sakata Y, Nakatani D, Suna S, Usami M, Matsumoto S, Hamasaki T, Doi Y, Nishino M, Sato H, Kitamura T, Nanto S, Hori M, Komuro I; for the Osaka Acute Coronary Insufficiency Study (OACIS) Investigators. A subset of circulating microRNAs are predictive for cardiac death after discharge for acute myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun*. 19;427(2):280-4, 2012.
- 13) Minamino T, Toba K, Higo S, Nakatani D, Hikoso S, Umegaki M, Yamamoto K, Sawa Y, Aizawa Y, Komuro I. EPO-AMI-II study investigators. Design and Rationale of Low-Dose Erythropoietin in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction (EPO-AMI-II Study): A Randomized Controlled Clinical Trial. *Cardiovasc Drugs Ther*. 26(5):409-16,

- 2012.
- 14) Omori Y, Ohtani T, Sakata Y, Mano T, Takeda Y, Tamaki S, Tsukamoto Y, Kamimura D, Aizawa Y, Miwa T, Komuro I, Soga T, Yamamoto K. L-Carnitine prevents the development of ventricular fibrosis and heart failure with preserved ejection fraction in hypertensive heart disease. *J Hypertens.* 30(9):1834-44, 2012.
- 15) Nagai T, Komuro I. Gene and cytokine therapy for heart failure: molecular mechanisms in the improvement of cardiac function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1;303(5):H501-12, 2012.
- 16) Minamiguchi H, Mizuno H, Masuda M, Sakata Y, Saito S, Nanto S, Sawa Y, Komuro I. Catheter ablation of focal atrial tachycardia originating from a donor heart after bicaval orthotopic heart transplantation guided by a noncontact mapping system. *Int Heart J.* 53(2):146-8, 2012.
- 17) Naito AT, Sumida T, Nomura S, Liu ML, Higo T, Nakagawa A, Okada K, Sakai T, Hashimoto A, Hara Y, Shimizu I, Zhu W, Toko H, Katada A, Akazawa H, Oka T, Lee JK, Minamino T, Nagai T, Walsh K, Kikuchi A, Matsumoto M, Botto M, Shiojima I, Komuro I. Complement C1q activates canonical Wnt signaling and promotes aging-related phenotypes. *Cell.* 149(6):1298-313, 2012.
- 18) Higuchi K, Nakaoka Y, Shioyama W, Arita Y, Hashimoto T, Yasui T, Ikeoka K, Kuroda T, Minami T, Nishida K, Fujio Y, Yamauchi-Takahara K, Shirai M, Mochizuki N, Komuro I. Endothelial Gab1 deletion accelerates angiotensin II-dependent vascular inflammation and atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice. *Circ J.* 76(8):2031-40, 2012.
- 19) Masuda D, Sugimoto T, Tsujii K, Inagaki M, Nakatani K, Yuasa-Kawase M, Tsubakio-Yamamoto K, Ohama T, Nishida M, Ishigami M, Kawamoto T, Matsuyama A, Sakai N, Komuro I, Yamashita S. Correlation of fasting serum apolipoprotein B-48 with coronary artery disease prevalence. *Eur J Clin Invest.* 42(9):992-9, 2012.
- 20) Oka T, Hikoso S, Yamaguchi O, Taneike M, Takeda T, Tamai T, Oyabu J, Murakawa T, Nakayama H, Nishida K, Akira S, Yamamoto A, Komuro I, Otsu K. Mitochondrial DNA that escapes from autophagy causes inflammation and heart failure. *Nature.* 485(7397):251-5, 2012.
- 21) Matsumoto S, Nakatani D, Sakata Y, Suna S, Shimizu M, Usami M, Hara M, Sumitsuji S, Nanto S, Sasaki T, Hamasaki T, Sato H, Hori M, Komuro I. on Behalf of the Osaka Acute Coronary Insufficiency Study (OACIS) Group. Elevated Serum Heart-Type Fatty Acid-Binding Protein in the Convalescent Stage Predicts Long-Term Outcome in Patients Surviving Acute Myocardial Infarction. *Circ J.* Dec 29, 2012.
- 22) Suna S, Sakata Y, Nakatani D, Okuda K, Shimizu M, Usami M, Matsumoto S, Hara M, Ozaki K, Mizuno H, Minamino T, Takashima S, Nishino M, Matsumura Y, Takeda H, Tanaka T, Sato H, Hori M, Komuro I. Decreased mortality associated with statin treatment in patients with acute myocardial infarction and lymphotoxin-alpha C804A polymorphism. *Atherosclerosis.* Jan 25, 2013.
- 23) Nakatani D, Sakata Y, Suna S, Usami M, Matsumoto S, Shimizu M, Hara M, Uematsu M, Fukunami M, Hamasaki T, Sato H, Hori M, Komuro I. Osaka Acute Coronary Insufficiency Study (OACIS) Investigators. Impact of Beta Blockade Therapy on Long-Term

- Mortality After ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction in the Percutaneous Coronary Intervention Era. *Am J Cardiol.* 111(4):457-64, 2013.
- 24) Matsumoto S, Sakata Y, Suna S, Nakatani D, Usami M, Hara M, Kitamura T, Hamasaki T, Nanto S, Kawahara Y, Komuro I. Circulating p53-responsive microRNAs are predictive indicators of heart failure after acute myocardial infarction. *Circ Res.*113:322-326,2013
- 25) Uchinaka A, Kawaguchi N, Hamada Y, Miyagawa S, Saito A, Mori S, Sawa Y, Matsuura N. Transplantation of elastin-secreting myoblast sheets improves cardiac function in infarcted rat heart. *Mol Cell Biochem.* 368(1-2):203-14. 2012.
- 26) Satio S, Miyagawa S, Sakaguchi T, Imanishi Y, Iseoka H, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Saito A, Shimizu T, Okano T, Sawa Y. Myoblast sheet can prevent the impairment of cardiac diastolic function and late remodeling after left ventricular restoration in ischemic cardiomyopathy. *Transplantation.* 93(11):1108-15. 2012.
- 27) Sawa Y, Miyagawa S, Sakaguchi T, Fujita T, Matsuyama A, Saito A, Shimizu T, Okano T. Tissue engineered myoblast sheets improved cardiac function sufficiently to discontinue LVAS in a patient with DCM: report of a case. *Surg Today.* 42(2):181-4. 2012.
- 28) Nishi H, Sakaguchi T, Miyagawa S, Yoshikawa Y, Fukushima S, Sumitsuji S, Sawa Y. Failed Depiction of Patent Bypass Graft Due to Presence of Large Lateral Costal Artery. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2011.
- 29) Kawamura M, Sakaguchi T, Yoshikawa Y, Sawa Y. A Case of Mobile and Massive Calcifications in the Left Ventricle with Unknown Etiology. *J Card Surg.* 1540-8191. 2011.
- 30) Nishi H, Sakaguchi T, Miyagawa S, Yoshikawa Y, Sawa Y. Cardiac Surgery in Patients with Gilbert's Syndrome. *J Card Surg.* 1540-8191. 2011.
- 31) Yoshioka D, Sakaguchi T, Saito S, Miyagawa S, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Ueno T, Kuratani T, Sawa Y. Initial Experience of Conversion of Toyobo Paracorporeal Left Ventricular Assist Device to DuraHeart Left Ventricular Assist Device. *Circ J.* 2011. Nov 27.
- 32) Takeda K, Sakaguchi T, Miyagawa S, Shudo Y, Kainuma S, Masai T, Taniguchi K, Sawa Y. The extent of early left ventricular reverse remodelling is related to midterm outcomes after restrictive mitral annuloplasty in patients with non-ischaemic dilated cardiomyopathy and functional mitral regurgitation. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2011.
- 33) Kainuma S, Sakaguchi T, Saito S, Miyagawa S, Yoshikawa Y, Yamauchi T, Sakata Y, Takahashi A, Uehata T, Kuratani T, Sawa Y. Implantation of a Jarvik 2000 left ventricular assist device as a bridge to eligibility for refractory heart failure with renal dysfunction. *J Artif Organs.* 2011.
- 34) Shudo Y, Miyagawa S, Fukushima S, Saito A, Shimizu T, Okano T, Sawa Y. Novel regenerative therapy using cell-sheet covered with omentum flap delivers a huge number of cells in a porcine myocardial infarction model. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 42(5):1188-96. 2011.
- 35) Kawamura M, Sakaguchi T, Miyagawa S, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Saito S, Ueno T, Kuratani T, Sawa Y. Exchange of DuraHeart left ventricular assist device via a subcostal approach. *J Artif Organs.* 2011.
- 36) Saito T, Masai T, Takeda K, Sunagawa G, Sawa Y. A case of successful valve repair for aortic insufficiency associated with

- discrete subaortic stenosis. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 7(5):521-3. 2011.
- 37) Kainuma S, Kuratani T, Kin K, Sawa Y. Endovascular aortic repair for spontaneous rupture of a non-aneurysmal infrarenal aorta. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 13(5):526-8. 2011.
- 38) Fujita T, Sakaguchi T, Miyagawa S, Saito A, Sekiya N, Izutani H, Sawa Y. Clinical impact of combined transplantation of autologous skeletal myoblasts and bone marrow mononuclear cells in patients with severely deteriorated ischemic cardiomyopathy. *Surg Today.* 41(8):1029-36. 2011.
- 39) Sunagawa G, Masai T, Takeda K, Ishida M, Yamauchi T, Sawa Y. Successful bridge to recovery in a patient surviving fatal device-related complications after implantation of a Toyobo left ventricular assist system. *J Artif Organs.* 14(4):364-6. 2011.
- 40) Kainuma S, Kuratani T, Shimamura K, Takeda Y, Yamamoto K, Nakatani S, Nanto S, Sawa Y. Transcatheter aortic valve implantation: first trans-iliac experience in Japan. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 59(4):273-6. 2011.
- 41) Saito S, Sakaguchi T, Sawa Y. Clinical report of long-term support with dual Jarvik 2000 biventricular assist device. *J Heart Lung Transplant.* 30(7):845-7. 2011.
- 42) Kainuma S, Kuratani T, Sawa Y. Hybrid endovascular stent-grafting technique for patent ductus arteriosus in an adult. *Thorac Cardiovasc Surg.* 59(6):370-2. 2011.
- 43) Kainuma S, Taniguchi K, Toda K, Funatsu T, Kondoh H, Nishino M, Daimon T, Sawa Y. Pulmonary hypertension predicts adverse cardiac events after restrictive mitral annuloplasty for severe functional mitral regurgitation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 142(4):783-92. 2011.
- 44) Yoshioka Y, Shimizu S, Ito T, Taniguchi M, Nomura M, Nishida T, Sawa Y. p53 Inhibits Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Solid Tumor. *J Surg Res.* (in press) 2011.
- 45) Saito S, Sakaguchi T, Miyagawa S, Yoshikawa Y, Yamauchi T, Ueno T, Kuratani T, Sawa Y. Biventricular support using implantable continuous-flow ventricular assist devices. *J Heart Lung Transplant.* 30(4):475-8. 2011.
- 46) Shudo Y, Matsumiya G, Sakaguchi T, Fujita T, Yamauchi T, Sawa Y. Resection of advanced stage malignant retroperitoneal neoplasms with tumor thrombus extending into the right atrium: report of four cases. *Surg Today.* 41(2):262-5. 2011.
- 47) Adachi I, Ueno T, Ichikawa H, Kagisaki K, Ide H, Hoashi T, Kogaki S, Ohuchi H, Yagihara T, Sawa Y. Effect of ventricular volume before unloading in a systemic ventricle supporting the Fontan circulation. *Am J Cardiol.* 107(3):459-65. 2011.
- 48) Kainuma S, Masai T, Yoshitatsu M, Miyagawa S, Yamauchi T, Takeda K, Morii E, Sawa Y. Advanced left-atrial fibrosis is associated with unsuccessful maze operation for valvular atrial fibrillation. *Eur J Cardiothorac Surg.* 40(1):61-9. 2011.
- 49) Imanishi Y, Miyagawa S, Saito A, Kitagawa-Sakakida S, Sawa Y. Allogenic skeletal myoblast transplantation in acute myocardial infarction model rats. *Transplantation.* 91(4):425-31. 2011.
- 50) Miyagawa S, Roth M, Saito A, Sawa Y, Kostin S Tissue-engineered cardiac constructs for cardiac repair. *Ann Thorac Surg.* 91(1):320-9. 2011.
- 51) Mimura I, Nangaku M, Kanki Y, Tsutsumi S, Inoue T, Kohro T, Yamamoto S, Fujita T, Shimamura T, Suehiro JI, Taguchi A,

- Kobayashi M, Tanimura K, Inagaki T, Tanaka T, Hamakubo T, Sakai J, Aburatani H, Kodama T, Wada Y. Dynamic change of the chromatin conformation in response to hypoxia enhances the expression of GLUT3 (SLC2A3) by cooperative interaction of HIF1 and KDM3A. *Mol Cell Biol.* 32(15): 3018-32. 2012.
- 52) Tsuji S, Ihara S, Aburatani H. A simple knowledge-based mining method for exploring hidden key molecules in a human biomolecular network. *BMC Syst Biol.* 6(1): 124. 2012.
- 53) Matsubara D, Kanai Y, Ishikawa S, Ohara S, Yoshimoto T, Sakatani T, Oguni S, Tamura T, Kataoka H, Endo S, Murakami Y, Aburatani H, Fukayama M, Niki T. Identification of CCDC6-RET Fusion in the Human Lung Adenocarcinoma Cell Line, LC-2/ad. *J Thorac Oncol.* 7(12):1872-1876. 2012
- 54) Son BK, Akishita M, Iijima K, Ogawa S, Arai T, Ishii H, Maemura K, Aburatani H, Eto M, Ouchi Y. Thrombomodulin, a novel molecule regulating inorganic phosphate-induced vascular smooth muscle cell calcification. *J Mol Cell Cardiol.* 2012 Dec 26.
- 55) Wang L (2 4 人 略) Aburatani H. Whole-exome sequencing of human pancreatic cancers and characterization of genomic instability caused by MLH1 haploinsufficiency and complete deficiency. *Genome Research.* 2011.
- 56) Nagae G (1 5 人 略) Aburatani H. Tissue-specific demethylation in CpG-poor promoters during cellular differentiation. *Hum Mol Genet.* 20(14): 2710-21. 2011.
- 57) Totoki Y (1 8 人 略) Aburatani H (1 人 略). High-resolution characterization of a hepatocellular carcinoma genome. *Nat Genet.* 43(5): 464-9. 2011.
- 58) Matsuura K (6 人 略) Aburatani H (2 人 略). Identification of a link between Wnt/ β -catenin signalling and the cell fusion pathway. *Nat Commun.* 2: 548. 2011.
- 59) Matsusaka K (8 人 略) Aburatani H (1 人 略). Classification of epstein-barr virus-positive gastric cancers by definition of DNA methylation epigenotypes. *Cancer Res.* 71(23): 7187-97. 2011.
- 60) Watanabe A (1 2 人 略) Aburatani H. Homozygously deleted gene DACH1 regulates tumor-initiating activity of glioma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108(30): 12384-9. 2011.
- 61) Kanki Y (1 1 人 略) Aburatani H (2 人 略). Epigenetically coordinated GATA2 binding is necessary for endothelium-specific endomucin expression. *EMBO J.* 30(13): 2582-95. 2011.
- 62) Sugita S (1 0 人 略) Aburatani H (9 人 略). Increased systemic glucose tolerance with increased muscle glucose uptake in transgenic mice overexpressing RXR in skeletal muscle. *PLoS One.* 6(5): e20467. 2011.
- 63) Mizutani A (7 人 略) Aburatani H. Cell type-specific target selection by combinatorial binding of Smad2/3 proteins and hepatocyte nuclear factor 4 α in HepG2 cells. *J Biol Chem.* 286(34): 29848-60. 2011.
- 64) Nakabayashi K (7 人 略) Aburatani H (4 人 略). Methylation screening of reciprocal genome-wide UPDs identifies novel human-specific imprinted genes. *Hum Mol Genet.* 20(16): 3188-97. 2011.
- 65) Sato K (7 人 略) Aburatani H (1 人 略). Marked induction of c-Maf protein during Th17 cell differentiation and its implication in memory Th cell development. *J Biol Chem.* 286(17): 14963-71. 2011.
- 66) Takahama H, Shigematsu H, Asai T,

- Matsuzaki T, Sanada S, Fu HY, Okuda K, Yamato M, Asanuma H, Asano Y, Asakura M, Oku N, Komuro I, Kitakaze M, Minamino T. Liposomal amiodarone augments anti-arrhythmic effects and reduces hemodynamic adverse effects in an ischemia/reperfusion rat model. *Cardiovasc Drugs Ther.* 27(2):125-32. 2013.
- 67) Takahashi A, Asakura M, Ito S, Min KD, Shindo K, Yan Y, Liao Y, Yamazaki, S, Sanada S, Asano Y, Ishibashi-Ueda H, Takashima S, Minamino T, Asanuma H, Mochizuki N, Kitakaze M. Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibition Improves Pathophysiology of Heart Failure and Increases Survival Rate in Pressure-Overloaded Mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013 Mar 15.
- 68) Yoshida A, Asanuma H, Sasaki H, Sanada S, Yamazaki S, Asano Y, Shinozaki, Y, Mori H, Shimouchi A, Sano M, Asakura M, Minamino T, Takashima S, Sugimachi M, Mochizuki N, Kitakaze M. H(2) mediates cardioprotection via involvements of K(ATP) channels and permeability transition pores of mitochondria in dogs. *Cardiovasc Drugs Ther.* 26(3):217-26. 2012.
- 69) Nishikawa K, Asai T, Shigematsu H, Shimizu K, Kato H, Asano Y, Takashima S, Mekada E, Oku N, Minamino T. Development of anti-HB-EGF immunoliposomes for the treatment of breast cancer. *J Control Release.* 160(2):274-80. 2012.
- 70) Muratsu J (2人略) Asano Y, Sakata Y (3人略) Komuro I. The impact of cardiac resynchronization therapy in an end-stage heart failure patient with a left ventricular assist device as a bridge to recovery. A case report. *Int Heart J.* 52(4): 246-7. 2011.
- 71) Hara M (3人略) Asano Y, Sakata Y (1人略) Komuro I. Clinical impact of off-label cardiac resynchronization therapy in end-stage heart failure patients on continuous intravenous inotrope. *Clin Cardiol.* 34(11): 714-20. 2011.
- 72) Takeuchi A, Shimba K, Mori M, Takayama Y, Moriguchi H, Kotani K, Lee JK, Noshiro M, Jimbo Y. Sympathetic neurons modulate the beat rate of pluripotent cell-derived cardiomyocytes in vitro. *Integr Biol (Camb).* 4(12):1532-9. 2012.
- 73) Yoshida A, Asanuma H, Sasaki H, Sanada S, Yamazaki S, Asano Y, Shinozaki Y, Mori H, Shimouchi A, Sano M, Asakura M, Minamino T, Takashima S, Sugimachi M, Mochizuki N, Kitakaze M. H(2) mediates cardioprotection via involvements of K(ATP) channels and permeability transition pores of mitochondria in dogs. *Cardiovasc Drugs Ther.* 26(3):217-26. 2012.
- 74) Takahashi A, Asakura M, Ito S, Min K, Shindo K, Yan Y, Liao Y, Yamazaki S, Sanada S, Asano Y, Ishibashi-Ueda H, Takashima T, Minamino T, Asanuma H, Mochizuki N, Kitakaze M. Dipeptidyl-Peptidase IV Inhibition Improves Pathophysiology of Heart Failure and Increases Survival Rate in Pressure-Overloaded Mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013.
- 75) Yamazaki S, Kobayashi H, Takashima S, Liu W, Okuda H, Yan J, Fujii Y, Hitomi T, Harada KH, Habu T, Koizumi A. Ablation of Rnf213 retards progression of diabetes in the Akita mouse. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 Feb 11.
- 76) Maeda T, Takeuchi K, Pang X, Zankov DP, Takashima N, Fujiyoshi A, Kadowaki T, Miura K, Ueshima H, Ogita H. Lipoprotein-associated phospholipase A2 regulates macrophage apoptosis through the Akt and caspase-7 pathways. *J Atheroscler Thromb.* In press. 2014.
- 77) Yamane T, Murao S, Kato I, Kashima L,

- Yuguchi M, Kozuka M, Takeuchi K, Ogita H, Ohkubo I, Ariga H. Transcriptional regulation of the legumain gene by p53 in HCT116 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 438: 613-618. 2013.
- 78) Majima T, Takeuchi K, Sano K, Hirashima M, Zankov DP, Tanaka-Okamoto M, Ishizaki H, Miyoshi J, Ogita H. An Adaptor Molecule Afadin Regulates Lymphangiogenesis by Modulating RhoA Activity in the Developing Mouse Embryo. *PLoS One.* 8: e68134. 2013.
- 79) Zankov DP, Ogita H. ACTN4 (actinin, alpha4). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 17: 663-669. 2013.
- 80) An LP, Maeda T, Sakaue T, Takeuchi K, Yamane T, Du PG, Ohkubo I, Ogita H. Purification, molecular cloning and functional characterization of swine phosphatidyl-ethanolamine-binding protein 4 from seminal plasma. *Biochem Biophys Res Commun.* 423: 690-696. 2012.
- 81) Ueyama H, Muraki-Oda S, Yamade S, Tanabe S, Yamashita T, Shichida Y, Ogita H. Unique haplotype in exon 3 of cone opsin mRNA affects splicing of its precursor, leading to congenital color vision defect. *Biochem Biophys Res Commun.* 424: 152-157. 2012.
- 82) Hatoh T, Maeda T, Takeuchi K, Ogikubo O, Uchiyama S, Otsuka T, Ohkubo I, Ogita H. Domain 5 of high molecular weight kininogen inhibits collagen-mediated cancer cell adhesion and invasion in association with -actinin-4. *Biochem Biophys Res Commun.* 427: 497-502. 2012.
- 83) Yamane T, Hachisu R, Yuguchi M, Takeuchi K, Murao S, Yamamoto Y, Ogita H, Takasawa T, Ohkubo I, Ariga H. Knockdown of legumain inhibits cleavage of annexin A2 in the mouse kidney. *Biochem Biophys Res Commun.* 430: 482-487. 2013.
- 84) Sakamoto A, Ishizaka N, Imai Y, Ando J, Nagai R, Komuro I. Association of serum IgG4 and soluble interleukin-2 receptor levels with epicardial adipose tissue and coronary artery calcification. *Clin Chim Acta.* 2014 Jan 20;428:63-9
- 85) Oka T, Akazawa H, Naito AT, Komuro I. Angiogenesis and cardiac hypertrophy: maintenance of cardiac function and causative roles in heart failure. *Circ Res.* 2014 Jan 31;114(3):565-71
- 86) Kojima T, Imai Y, Komuro I. Giant coronary arteriovenous fistula between left superior pulmonary vein and left atrial appendage. *Europace.* 2014 Jan;16(1):39.
- 87) Takahashi T, Asano Y, Amiya E, Hatano M, Tamaki Z, Takata M, Ozeki A, Watanabe A, Kawarasaki S, Taniguchi T, Ichimura Y, Toyama T, Watanabe M, Hirata Y, Nagai R, Komuro I, Sato S. Clinical correlation of brachial artery flow-mediated dilation in patients with systemic sclerosis. *Mod Rheumatol.* 2014 Jan;24(1):106-11.
- 88) Nakayama A, Morita H, Miyata T, Hoshina K, Nagayama M, Takanashi S, Sumiyoshi T, Komuro I, Nagai R. Predictors of mortality after emergency or elective repair of abdominal aortic aneurysm in a Japanese population. *Heart Vessels.* 2014 Jan;29(1):65-70.
- 89) Fujita D, Takahashi M, Doi K, Abe M, Tazaki J, Kiyosue A, Myojo M, Ando J, Fujita H, Noiri E, Sugaya T, Hirata Y, Komuro I. Response of urinary liver-type fatty acid-binding protein to contrast media administration has a potential to predict one-year renal outcome in patients with ischemic heart disease. *Heart Vessels.* 2014 Feb 20.
- 90) Takata M, Amiya E, Watanabe M, Ozeki A, Watanabe A, Kawarasaki S, Nakao T, Hosoya Y, Uno K, Saito A, Murasawa T, Ono M, Nagai R, Komuro I. Brachial

- artery diameter has a predictive value in the improvement of flow-mediated dilation after aortic valve replacement for aortic stenosis. *Heart Vessels*. 2014 Feb 5.
- 91) Yamagata K, Goto Y, Nishimasu H, Morimoto J, Ishitani R, Dohmae N, Takeda N, Nagai R, Komuro I, Suga H, Nureki O. Structural basis for potent inhibition of SIRT2 deacetylase by a macrocyclic peptide inducing dynamic structural change. *Structure*. 2014 Feb 4;22(2):345-52.
- 92) Nishizaki Y, Shimada K, Tani S, Ogawa T, Ando J, Takahashi M, Yamamoto M, Shinozaki T, Miyauchi K, Nagao K, Hirayama A, Yoshimura M, Komuro I, Nagai R, Daida H. Significance of imbalance in the ratio of serum n-3 to n-6 polyunsaturated fatty acids in patients with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol*. 2014 Feb 1;113(3):441-5.
- 93) Taniguchi T, Sakata Y, Ohtani T, Mizote I, Takeda Y, Asano Y, Masuda M, Minamiguchi H, Kanzaki M, Ichibori Y, Nishi H, Toda K, Sawa Y, Komuro I. Usefulness of transient elastography for noninvasive and reliable estimation of right-sided filling pressure in heart failure. *Am J Cardiol*. 2014 Feb 1;113(3):552-8.
- 94) Tada Y, Ogawa M, Watanabe R, Zempo H, Takamura C, Suzuki J, Dan T, Miyata T, Isobe M, Komuro I. Neovascularization induced by hypoxia inducible transcription factor is associated with the improvement of cardiac dysfunction in experimental autoimmune myocarditis. *Expert Opin Investig Drugs*. 2014 Feb;23(2):149-62.
- 95) Gong H, Yan Y, Fang B, Xue Y, Yin P, Li L, Zhang G, Sun X, Chen Z, Ma H, Yang C, Ding Y, Yong Y, Zhu Y, Yang H, Komuro I, Ge J, Zou Y. Knockdown of nucleosome assembly protein 1-like 1 induces mesoderm formation and cardiomyogenesis via Notch signaling in murine induced pluripotent stem cells. *Stem Cells*. 2014 Mar 19.
- 96) Imamura T, Kinugawa K, Murasawa T, Kagami Y, Endo M, Muraoka H, Fujino T, Inaba T, Maki H, Hatano M, Kinoshita O, Nawata K, Kyo S, Komuro I, Ono M. Cardiac allograft vasculopathy can be distinguished from donor-transmitted coronary atherosclerosis by optical coherence tomography imaging in a heart transplantation recipient. *Int Heart J*. 2014 Mar 28;55(2):178-80
- 97) Imamura T, Kinugawa K, Minatsuki S, Muraoka H, Kato N, Inaba T, Maki H, Hatano M, Yao A, Komuro I. Urine sodium excretion after tolvaptan administration is dependent upon baseline serum sodium levels. *Int Heart J*. 2014 Mar 28;55(2):131-7.
- 98) Nakayama A, Morita H, Hamamatsu A, Miyata T, Hoshina K, Nagayama M, Takanashi S, Sumiyoshi T, Komuro I. Coronary atherosclerotic lesions in patients with a ruptured abdominal aortic aneurysm. *Heart Vessels*. 2014 Mar 7.
- 99) Hara H, Yamashita H, Nakayama A, Hosoya Y, Ando J, Iijima K, Hirata Y, Komuro I. A rare case of anomalous origin of the left anterior descending artery from the pulmonary artery. *Int J Cardiol*. 2014 Mar 1;172(1):e66-8.

(和文業績)

- 1) 森田啓行、山田奈美恵、小室一成
医学と医療の最前線
肥大型心筋症の遺伝子診断：推進に向けての方策 日本内科学会雑誌 102(5), 1233-1242, 2013
 - 2) 澤芳樹、山本一博、小室一成 心不全治療の現状と課題 最新医学、67(7)、7-19(1619-1631)、2012
 - 3) 澤芳樹 循環器領域における再生医療への挑戦細胞シート 医学のあゆみ、244、1343-1349、2013
 - 4) 朝野仁裕、小室一成 特集-心不全 心不全の原因診断の進歩 診断と治療 100(9):1558-1564. 2012. 診断と治療社
 - 5) 朝野仁裕、小室一成 特集「エクソーム解析 成果と将来」 「全エクソーム解析による難治性循環器疾患の原因遺伝子の同定」医学のあゆみ 2013 年 医歯薬出版株式会社 Vol.245 No.5 : 415-421,2013
- 2、学会発表
- 1) 小室一成 心不全の発症機序の解明から新しい治療へ。日本臨床分子医学会 東京都、2013. 4. 13.
 - 2) 小室一成 補体 C1q は老化を促進する 日本細胞生物学会 名古屋、2013. 6. 21
 - 3) 小室一成 心不全治療の現状と将来展望 日本循環器学会 札幌市、2013. 11. 23
 - 4) 澤芳樹 重症心不全に対する心筋再生治療法の確立 日本再生医療学会総会、基調講演 横浜、2013. 3. 21-23
 - 5) 澤芳樹 心臓再生医療の現状と展望 日本循環器学会、教育セッション 福岡、2012. 3. 17
 - 6) 油谷浩幸 第 17 回日本がん分子標的治療学会学術集会 Year in review がんゲノム 解析と分子標的治療 京都、2013. 6. 13
 - 7) 油谷浩幸 第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会 教育講演：Latest Medical Care Tumor profiling in clinical practice 仙台、2013. 8. 31
 - 8) 油谷浩幸 がんエピゲノム創薬 第 49 回日本臨床分子医学会学術集会 京都 4.14.2012
 - 9) 油谷浩幸 パーソナルオンコロジーへ向けてのゲノム情報解析 第 327 回 CBI 学会研究講演会 東京 6/1/2012
 - 10) 油谷浩幸 ゲノム医療の最前線 第 102 回発明教室 未来医療セミナー 金沢 8/29/2012
 - 11) 油谷浩幸 Genomic Medicine towards personal oncology. JDDW2012 神戸 10/11/2012
 - 12) 油谷浩幸 次世代シーケンサーによるがん診断 日本人類遺伝学会第 57 回大会 新宿 10/25/2012
 - 13) Komuro I. Molecular mechanism of heart failure Wihuri Research Institute, Helsinki, 2013. 8. 19.
 - 14) Kommuro I. Genetic and Molecular Determinants of Angiogenesis and Heart Failure Korea Socoety for Vascular Biology and Medicine Jeju 2013. 8. 22-23
 - 15) Yoshiki Sawa Regenerative Cell Sheet Technology to Repair the Heart American Heart Association (AHA) Los Angeles (USA), 2012. 11. 5
 - 16) Yoshiki Sawa Stem Cell Therapy for End-Staged Heart Failure HCH International Symposium Thai, 2013. 2. 16
 - 17) Hiroyuki Abratani Cancer Genomics to Drug discovery. Next Generation Sequencing Applications Asia Singapore. March 28-29, 2012.
 - 18) Yoshihiro Asano. Symposium: Research Strategies of Whole Exome Sequencing Practical Approaches for 110 Patients (32 families) with Hereditary Cardiomyopathy and Arrhythmia Japan Circulation Society Tokyo, March 20-23,

- 2014.
- 19) Aburatani H. Chromatin dynamics during cardiomyocyte differentiation. International Symposium on genetic and epigenetic control of cell fate. Kyoto 11.6.2012
 - 20) 油谷浩幸 多層的オミックス解析による診断と治療の標的分子の探索:その最新事情 ゲノム・エピゲノム解析. 臨床応用を目指した最前線セミナーPart.12 東京 2011.4.27.
 - 21) 油谷浩幸 がんゲノム解析. 第16回東京肝臓シンポジウム 東京 2011.6.11.
 - 22) Aburatani H. Next generation genomic analysis of hepatocellular carcinoma. International Symposium on Application of NGS on Genomics and Epigenomics 台北 2011.6.27.
 - 23) 油谷浩幸 第26回北摂循環器研究会 エピゲノム解析の現状と疾患解析. 大阪 2011.7.5.
 - 24) Aburatani H. Current Challenges & New Technologies. 5th ICGC Scientific Workshop (July 10–12, 2011, Kyoto).
 - 25) 油谷浩幸 次世代シーケンサーを用いた癌ゲノム解析:検体調製からデータ解析まで. 第6回肺癌分子病態研究会 東京 2011.9.3.
 - 26) 油谷浩幸 がんエピゲノム創薬. BioJapan2011 横浜 2011.10.6.
 - 27) 油谷浩幸 パーソナルゲノム解析がもたらすがん予防・治療戦略. 第61回日本体質医学会総会 東京 2011.10.8.
 - 28) Aburatani H. Genomic instability caused by MLH1 haploinsufficiency in pancreatic cancer. US-Japan Cancer Genomics and Epigenomics Workshop (October 24–26, 2011 – Kyoto).
 - 29) Aburatani H. Next generation genomic analysis of hepatocellular carcinoma. JSPS 164th committee 4th Kickoff Symposium (October 27, 2011, Tokyo)
 - 30) 油谷浩幸 がんゲノム診断. 第56回人類遺伝学会 シンポジウム 12 家族性腫瘍 2011.11.12. 幕張.
 - 31) 油谷浩幸 エピゲノム解析からせまる循環器研究. 第11回 Cardiovascular Frontier Conference 東京 2011.11.19.
 - 32) Aburatani H. Cancer genomics and epigenomics International Scientific Coordination Network (November 22–25, 2011 – Montpellier, Franc).
 - 33) Aburatani H. Personalized oncology. FOCUS symposium (11.29.2011, Sendai)
 - 34) 油谷浩幸 次世代ゲノム研究の最前線. 2011 次世代シーケンサーセミナー 東京 2011.11.30.
 - 35) Aburatani H. Cancer genome sequencing. MBSJ2011Workshop: Next generation molecular medicine (12,13,2011. Yokohama).
 - 36) 油谷浩幸 次世代ゲノム研究の最前線. 医科学政策研究会 東京 2011.12.17.
 - 37) 油谷浩幸 肝がんのパーソナルオンコロジーへ向けて. 第5回肝がん分子標的治療研究会 東京 2012. 1.14.
 - 38) 油谷浩幸 パーソナルオンコロジーの実現へ向けて. ゲノムテクノロジー第164委員会沖縄分科会 那覇 2011.1.25.
 - 39) 油谷浩幸 エピゲノム解析の現状&心筋分化のエピゲノム・ダイナミクス. 第5回 iPS 細胞・再生医学研究会 京都 2011.2.3.
 - 40) 油谷浩幸 肝がんのパーソナルオンコロジーへ向けて.第6回新肝臓病研究会 甲府 2012.3.2.
 - 41) Aburatani H. Cancer Genomics to Drug discovery. Next Generation Sequencing Applications Asia (March 28–29, 2012, Singapore).
 - 42) Sawa Y. Tissue-Engineerd Cell Sheets to Facilitate VAD Wean. 49th American Heart Association (AHA) Orland 2011.11.12-16.
 - 43) Shirasaka T. Combined Therapy of Skeletal Myoblast Cell-Sheet Transplantation with Administration of Prostacycline Agonist Makes Left Ventricular Reverse Remodeling on the

- Impaired Myocardium in Rapid-Pacing Induced End-stage Heart Failure in Canine Heart. 49th American Heart Association (AHA) Orland 2011.11.12-16.
- 44) Saito S, Sakaguchi T, Miyagawa S, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Ueno T, Kuratani T, Saito A, Sawa Y. Myoblast Sheet Implantation Can Prevent the Impairment of Cardiac Diastolic Function after Left Ventricular Restoration by Modulating the Extracellular Matrix Gene Expression. Progress Meeting on International consortium for cardiac tissue engineering Tampere, Finland 2011.8.22-24.
- 45) Shudo Y, Miyagawa S, Saito A, Sakaguchi T, Kainuma S, Kuratani T, Sawa Y. Novel Regenerative Therapy Using Cell-Sheet Covered with Omentum Flap to Deliver Huge Numbers of Cells in a Porcine Myocardial Infarction Model. 91th AATS (American Association for Thoracic Surgery) Philadelphia 2011.5.7-11
- 46) Saito S, Sakaguchi T, Miyagawa S, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Ueno T, Kuratani T, Saito A, Sawa Y. Myoblast Sheet Implantation Can Prevent the Impairment of Cardiac Diastolic Function after Left Ventricular Restoration by Modulating the Extracellular Matrix Gene Expression. 31th International Society for Heart and Lung Transplantation San Diego 2011.4.13-16.
- 47) 宮川 繁, 澤 芳樹. 再生医療を用いた心不全に対するアンチエイジング治療. アンチエイジングフェスタ 2011 大阪 2011.12.2-3.
- 48) 宮川 繁, 澤 芳樹. 心不全における再生医療の現況. 第 49 回日本人工臓器学会大会 東京 2011.11.25-27.
- 49) 宮川 繁, 吉川泰司, 坂口太一, 西 宏之, 福嶋五月, 斎藤俊輔, 斎藤充弘, 樋口貴宏, 首藤恭広, 澤 芳樹. 虚血性心筋症に対する自己筋芽細胞移植の効果 症例報告 . 第 15 回日本心不全学会学術集会 鹿児島 2011.10.13-15.
- 50) Yoshikawa Y, Miyagawa S, Sakaguchi T, Saito A, Nishi H, Fukushima S, Saito S, Higuchi T, Shudo Y, Sawa Y. A Scaffold-free myocardial regenerative therapy using the autologous skeletal-muscle-derived cell (SC) sheet implantation for patients with dilated cardiomyopathy. 第 15 回日本心不全学会学術集会 鹿児島 2011.10.13-15.
- 51) 吉川泰司, 宮川 繁, 坂口太一, 西 宏之, 福嶋五月, 斎藤俊輔, 斎藤充弘, 樋口貴宏, 首藤恭広, 澤 芳樹. 虚血性心筋症に対する自己筋芽細胞移植の効果 症例報告 . 第 32 回循環器内科・外科フォーラム 大阪 2011.9.10.
- 52) 宮川 繁. From Bench to Bedside work in cell sheet-based myocardial regeneration therapy. 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会 横浜 2011.8.3-4.
- 53) 宮川 繁, 坂口太一, 西 宏之, 吉川泰司, 福嶋五月, 斎藤俊輔, 斎藤充弘, 首藤恭広, 樋口貴宏, 上野高義, 倉谷 徹, 澤 芳樹. 虚血性心筋症に対する再生型治療の現状と展望. 第 16 回日本冠動脈外科学会学術大会 長野 2011.7.14-15.
- 54) 吉川泰司, 坂口太一, 宮川 繁, 西 宏之, 福嶋五月, 斎藤俊輔, 上野高義, 倉谷 徹, 澤 芳樹. 虚血性心筋症患者への自己筋芽細胞シート移植の効果. 第 54 回関西胸部外科学会学術集会 高松 2011.6.30-7.1.
- 55) 宮川 繁, 坂口太一, 西 宏之, 吉川泰司, 福嶋五月, 斎藤俊輔, 首藤泰広, 斎藤充弘, 倉谷 徹, 澤 芳樹. 重症心不全における再生型治療の基礎研究および臨床応用. 第 111 回日本外科学会定期学術総会 震災の影響により誌上発表 (予定: 東京国際フォーラム 2011.5.26-28).
- 56) 首藤恭広, 宮川 繁, 斎藤充弘, 坂口太一, 西 宏之, 吉川泰司, 倉谷 徹, 澤 芳樹. 重症心不全における新しい細胞移植の検討: 細胞シートの大網を用いた大量細胞移植法. 第 111 回日本外科学会定期学術総会 震災の影響により誌上発表

- 表 (予定 : 東京国際フォーラム 2011.5.26-28).
- 57) 宮川 繁、坂口太一、西 宏之、吉川泰司、福嶋五月、齋藤俊輔、齋藤充弘、首藤恭広、清水達也、岡野光夫、澤 芳樹. 重症心不全に対する筋芽細胞シートの臨床応用. 第 27 回日本医工学治療学会学術大会 岡山 2011.4.22-24.
- 58) 澤 芳樹. 弱った心臓は甦る!?. 第 10 回日本再生医療学会総会 東京 2011.3.1-2.
- 59) 澤 芳樹. 自己筋芽細胞シートによる心筋再生治療臨床研究. 第 10 回日本再生医療学会総会 東京 2011.3.1-2.
- 60) 吉川泰司、宮川繁、坂口太一、齋藤充弘、西宏之、福嶋五月、齋藤俊輔、首藤恭広、澤 芳樹. 左室補助人工心臓装置を要する末期拡張型心筋症患者に対する自己筋芽細胞シート移植の臨床研究の効果. 第 10 回日本再生医療学会総会 東京 2011.3.1-2.
- 61) 首藤恭広、宮川 繁、齋藤充弘、坂口太一、西宏之、吉川泰司、福嶋五月、齋藤俊輔、甲斐沼尚、清水達也、岡野光夫、澤 芳樹. 重症心不全における新しい細胞移植法の検討:細胞シートと大網を用いた大量細胞移植法. 第 10 回日本再生医療学会総会 東京 2011.3.1-2.
- 62) 宮川 繁、坂口太一、西宏之、吉川泰司、福嶋五月、齋藤俊輔、齋藤充弘、倉谷徹、澤 芳樹. 重症心不全に対する自己細胞による再生医療の展開. 第 41 回日本心臓血管外科学会学術総会 浦安 2011.2.23-25.
- 63) 吉川泰司、坂口太一、宮川 繁、西宏之、福嶋五月、上野高義、倉谷徹、澤 芳樹. 重症心不全患者に対する自己筋芽細胞シート移植の臨床研究の効果. 第 41 回日本心臓血管外科学 (ア) 会学術総会 浦安 2011.2.23-25.
- 64) 首藤恭広、宮川繁、齋藤充弘、坂口太一、西宏之、吉川泰司、福嶋五月、齋藤俊輔、首藤恭広、樋口貴宏、鎌田創吉、甲斐沼尚、吉岡大輔、清水達也、岡野光夫、澤 芳樹. 重症心不全における細胞シートと大網を用いた新しい大量細胞移植法の検討. 第 41 回日本心臓血管外科学会学術総会 浦安 2011.2.23-25.
- 65) 吉川泰司、宮川 繁、坂口太一、齋藤充弘、西 宏之、福嶋五月、齋藤俊輔、首藤恭広、樋口貴宏、澤 芳樹. 左室補助人工心臓装置を要する末期拡張型心筋症患者に対する自己筋芽細胞シート移植の臨床研究の効果. 第 39 回人工心臓と補助循環懇話会 米子 2011.2.18-19.
- 66) 朝野仁裕. 「パネルディスカッション 再生医療に貢献する技術」心筋細胞の可塑性を判断する病理学的臨床指標の開発 第 11 回日本再生医療学会総会 2012 年 6 月・横浜
- 67) 肥後修一郎、朝野仁裕
Featured Research Session 2 Title: Quantitative ChIP-sequence Analysis Reveals the Differentially Altered Active Epigenomic States in Murine Pressure-overloaded Failing Hearts 第 29 回国際心臓研究学会(ISHR)日本部会総会 2012 年 10 月・福岡
- 68) S Higo, Y Asano.
Oral session:Novel Regulators of Cardiac Hypertrophy Title: Comprehensive quantitative epigenome mapping reveals the differential induction of histone H3 lysine 4 trimethylation marks in pressure-overloaded murine hearts 米国心臓協会学術集会 American Heart Association Scientific Sessions 2012 2012 年 11 月・Los Angeles, USA
- 69) 木岡秀隆、朝野仁裕
Young Investigator's Award Finalists Lectures
Title:G0/G1 Switch Gene 2 Promotes Mitochondrial ATP Production and Protects Cardiomyocytes from the Energy Crisis under Hypoxia 第 77 回日本循環器学会学術集会 2013 年 3 月・横浜
- 70) 李鍾國
機能的再生心筋の構築 ~ 神経栄養因子を用いた交感神経軸索誘導 ~ 第 41 回

- 日本脈管作動物質学会シンポジウム「再生医療研究の最先端」2012年2月・秋田
- 71) 李鍾國
機能的再生心筋の構築 - Axon guidance of sympathetic neurons by neurotrophic factors -第10回 旭川脈管クラスター 2012年2月・旭川
- 72) 李鍾國
洞結節・刺激伝導系組織の再生 ~バイオペースメーカー治療は可能か? 第48回日本小児循環器学会学術集会 シンポジウム“サイエンス”はここまで進んだ~生命科学の最前線~第二部 生命科学の最前線 ~細胞、組織、臓器を創る~ 2012年7・旭川
- 73) 李鍾國
再生心筋構築に関する最近の話題 第27回 犬山不整脈カンファランス「再生心筋の興奮発生と伝導および不整脈研究への応用」2012年8月・東京
- 74) FU X, LEE J, MIWA K, SHIMIZU T, USUI A, HIRABAYASHI M, UEDA. Y
Reinnervation of Sympathetic Neurons in Engrafted Cardiac Cell Sheets Using Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor in vivo 第49回日本臨床分子医学会学術集会 2012年4月・京都
- 75) 今岡栄喜、内藤篤彦、原優里菜、李鍾國、小室一成 WntシグナルによるiPS細胞分化制御機構の解明 第11回日本再生医療学会総会 2012年6月・横浜
- 76) Morito D,(2人略), Yamazaki S,(4人略)
Structure and Function of Moyamoya Disease-Associated Protein
Mysterin/RNF213, IVBM 2014, 2013年4月 Japan(Kyoto)
- 77) Akira Funada (1人略) Satoru Yamazaki,(10人略).
Impact of the Polymorphisms of Renin-Angiotensin System on Prognosis in Hypertrophic Cardiomyopathy in the Era of Cardiac Magnetic Resonance 第77回日本循環器学会学術総会 2013年3月
- 78) 小谷友理,(1人略)、山崎 悟(3人略)
もやもや病関連タンパク質 mysterin による zebrafish の発生制御. 第8回臨床ストレス応答学会大会, 2013年11月
- 79) 小林 果、山崎 悟、(5人略).
ゼブラフィッシュモデルによるもやもや病感受性遺伝子 mysterin の機能解析 第82回日本衛生学会学術総会 2012年3月
- 80) Daisuke Morito, (3人略) Satoru Yamazaki,(6人略).
Structure and Function of AAA+/ubiquitin ligase Mysterin/RNF213.FASEB summer research conferences “Quality Life through Research. Saxtons River 2012年7月 USA
- 81) Yuri Kotani,(1人略), Satoru Yamazaki(4人略).
Regulation of mysterin, a moyamoya disease-associated protein, by de-ubiquitinating enzyme. EMBO/EMBL Symposium“Quality Control-From Molecules to Organelles-”, Heiderberg 2012年9月 Germany
- 82) Akira Funada (1人略) Satoru Yamazaki,(10人略).
Impact of the Polymorphisms of Renin-Angiotensin System on Prognosis in Hypertrophic Cardiomyopathy in the Era of Cardiac Magnetic Resonance 第77回日本循環器学会学術総会 2013年3月
- 83) Pang Xiaoling, Toshinaga Maeda, Keisuke Takeuchi, Hisakazu Ogita.
Regulation of macrophage apoptosis by lipoprotein-associated phospholipase A2 through the caspase-7 and Akt pathways. 日本循環器学会 2014年3月・東京
- 84) 村木早苗、上山久雄、山出新一、田邊詔子、扇田久和、大路正人
日本人先天色覚異常の2型3色覚における遺伝子型とアノマロスコープ結果との比較 日本臨床眼科学会 2013年10月・横浜
- 85) 真島崇、扇田久和

- アダプター分子アフアディンによる単量体 GTP アーゼ RhoA を介したリンパ管形成の制御機構 日本血管生物医学学会 2013 年 9 月・豊中
- 86) Keisuke Takeuchi, Dimitar P. Zankov, Takashi Majima, Hisakazu Ogita. Afadin regulates lymphangiogenesis through RhoA activation in mouse embryos. 日本生化学会大会 2013 年 9 月・横浜
- 87) 前田利長、竹内圭介、Pang Xiaoling、扇田久和 リポタンパク質関連ホスホリパーゼ A2 変異型 (V279F) 遺伝子によるアポトーシス誘導機序の検討 日本生化学会近畿支部例会 2013 年 5 月・吹田
- 88) 村木早苗、上山久雄、豊田太、扇田久和、大路正人 杆体一色覚における網膜錐体 cGMP 依存性カチオンチャネルの変異の機能的解析 日本眼科学会総会 2013 年 4 月・東京
- 89) 上山久雄、村木早苗、山出新一、田邊詔子、扇田久和 L、M 両錐体視物質遺伝子を持つ先天性色覚異常 - エキソン 3 の塩基多型ハプロタイプがスプライシングのパターンに影響する 日本生化学会近畿支部例会 2012 年 5 月・宇治
- 90) 前田利長、竹内圭介、高嶋直敬、藤吉朗、門脇崇、三浦克之、上島弘嗣、扇田久和 ホスホリパーゼ A2 グループ 7 (PLA2G7) の遺伝子多型とマクロファージにおけるアポトーシス誘導との相関 日本生化学会近畿支部例会 2012 年 5 月・宇治
- 91) 竹内圭介、前田利長、扇田久和 高分子キニノーゲン・ドメイン 5 とアクチニン-4 との相互作用によるがん細胞の細胞接着阻害機構 日本癌学会学術総会 2012 年 9 月・札幌
- 92) 村木早苗、上山久雄、山出新一、田邊詔子、扇田久和、大路正人 正常遺伝子型を持つ 1 型 2 色覚の遺伝子解析 日本臨床眼科学会 2012 年 10 月・京都
- 93) Takeuchi K, Majima T, Miyoshi J, Ogita H. An Adaptor Protein Afadin Regulates Lymphatic Vessel Development by Modulating RhoA Activation. American Heart Association 2012 年 11 月・Los Angeles, USA.
- 94) 上山久雄、村木早苗、豊田太、竹内圭介、扇田久和 杆体一色覚で見出された網膜錐体 cGMP 依存性カチオンチャネル 鎖のミスセンス変異の機能的解析 日本生化学会大会 2012 年 12 月・福岡

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1、特許取得
申請中 2 件 (非公開特許)
- 2、実用新案登録
なし
- 3、その他
以上、特筆すべき事項なし