

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 5年 4月 2日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 神戸大学大学院医学研究科  
職 名 医学研究員  
研究代表者 江本 拓央

下記のとおり令和4年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: )

1. 共同研究課題名	冠動脈プラークマクロファージのエピゲノム制御を介した心血管イベント抑制法の開発			
2. 共同研究目的	心筋梗塞、不安定狭心症を含む急性冠症候群における致死率は高く、その予防は極めて重要である。冠動脈プラークの特徴をシングルセル RNA シークエンスにて捉えることに成功したので、そのマクロファージをエピゲノムから制御することを目標としている。エピゲノムに造詣の深い貴研究所と共同研究を行う事で、プラーク安定化、心血管イベント抑制法を開発したい。			
3. 共同研究期間	令和 4年 4月 1日 ~ 令和 5年 3月 31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 江本 拓央	神戸大学大学院医学研究科 循環器内科学分野	医学研究員	研究の実施	
(分担研究者) 山下 智也	神戸大学 イノベーション研究科 先端医療学分野	准教授	研究の統括	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	代謝エピジェネティクス分野	氏 名	稲垣毅 教授

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

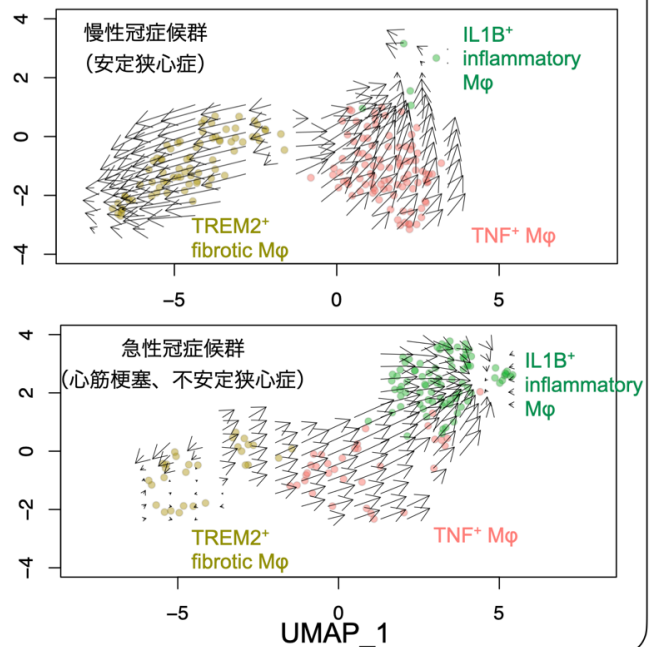
(課題番号: )

## 6. 共同研究計画

申請者らは、現在、唯一冠動脈プラークを得ることができる手技である冠動脈粥腫切除術(directional coronary atherectomy: DCA)で得られたサンプルを用いて、慢性冠症候群患者(安定狭心症)と急性疾患群患者(不安定狭心症、心筋梗塞)のプラークをシングルセル RNA Seq で解析し、比較を行った。マクロファージ(Mφ) にフォーカスして解析したところ、それぞれの特徴的な遺伝子発現から、TNF+ Mφ、TREM2+ fibrotic Mφ、IL1β+ inflammatory Mφ の 3 つに分けられた。慢性冠症候群と急性冠症候群のプラークを比較すると、IL1β+inflammatory Mφ は、慢性冠症候群では認めず、急性冠症候群でのみ集積が認められた(図参照)。シングルセル RNA Seq 解析では、RNA のスプライシング情報をもとに、細胞がどのように分化しているのかを調べる Velocity 解析を行うことができる(La Manno G et al. Nature.2018;560(7719):494-498.)。

その Velocity 解析を行うと、急性冠症候群では、慢性冠症候群プラークでは認めなかった、TREM2Mφ から IL-1β Mφ への分化を認めていた。これまでのマウスの研究や大規模臨床研究から IL-1β+Mφ がプラークを不安定化させることが想定されており(Ridker PM et al. N Engl J Med. 2017;377:1119-1131)、このMφの分化を止めることが治療法として有効と考えられる。冠動脈プラークサンプルのシングルセル ATACseqを行うことで、エピゲノム制御を解明し、この分化誘導を制御できる可能性を検討したい。

図、冠動脈プラークマクロファージ分画のシングルセルVelocity解析



## 7. 共同研究の成果

シングルセル ATAC シークエンスを行う計画を立て、慢性冠症候群、急性冠症候群のプラークを採取し、細胞を sorting し、核を露出して、回収を試みたが、サンプルが小さいことから、十分な細胞数の回収が困難であり、ATAC シークエンスすることが困難であった。現在回収法を変えて、まず冷凍処理してから、全体の細胞数を回収することを検討している。本研究に関する条件検討などで相談に乗って頂いた。

また、次の計画としてサンプルがより大きな大動脈弁でのシングルセル ATACseq 解析を考えており、現在サンプル回収は終え、条件検討中である。

8. 共同研究成果に関連する学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文, 又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等をできる限り記載してください。なお, 論文の場合は, PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係 e-mail : kk-msomu4@jimu.gunma-u.ac.jp

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

なし

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

なし

③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名, 開催日, 演題)

なし

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

シングルセル ATAC シークエンスの方法論や解釈の仕方についてメールなどのやり取りで意見交換を行った。