

Title	心アミロイドーシスの病態形成に関わる組織環境変化の解明
Sub Title	Elucidation of alterations in tissue environment related to pathogenesis of cardiac amyloidosis
Author	遠藤, 仁(Endo, Jin)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2020
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2019.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>野生型トランスサイレチン心アミロイドーシスは、変異のないトランスサイレチン蛋白が折りたたみ異常からアミロイド線維を形成し、心臓間質に病的な蓄積をきたし機能異常に至る疾患である。これまで多くの研究で、本疾患のモデル動物の樹立が試みられたが、いまだ現存しない。過去に、トランスサイレチンの過剰発現やヒト化、あるいはアミロイド形成・沈着に関わる付随蛋白の修飾を加えたマウスが作成されたが、アミロイドを形成しない、または形成してもトランスサイレチン由来のアミロイドではない、またはわずかに過ぎて機能異常をきたすまでには至らなかった。このような背景から本疾患の動物モデルの樹立には、本疾患の理解に必要な情報をヒトサンプルから入手し複合的にアプローチする必要があると考えた。現在、当施設のIRB審査を受けたのち、患者サンプルとして未固定の心筋生検凍結サンプルを集積している（5例）。また、蛋白の折りたたみ異常をきたしうる蛋白などに異常がないか調べるため、患者の血液サンプルから全エクソーム解析で遺伝子変異情報を網羅的に入手している（30例）。サンプル数がまとまり次第、個々に詳細な解析を進めていく予定である。また、培養細胞（心筋細胞および心臓線維芽細胞）を用いたトランスサイレチンアミロイドの蓄積機構および有毒性の分子機構の解明も動物モデルの樹立には必須である。我々は現在、熊本大学神経内科との共同研究で、ATTRwtと類似したアミロイド線維を形成するトランスサイレチンのフラグメントを用いて、心筋細胞および心臓線維芽細胞にどのようなストレス変化が生じるか評価を行なっている。いくつかの代表的な炎症マーカーが亢進することを確認しており、この実験系をもとに遺伝子解析で得られた候補分子についてKDを行ない分子機構の解明を行なう予定である。</p> <p>Wild-type transthyretin (ATTRwt) cardiac amyloidosis is a disease in which transthyretin without pathogenic mutation forms amyloid fibrils from protein misfolding, resulting in pathological accumulation at the cardiac interstitium leading to cardiac dysfunction. Numerous studies have attempted to establish animal models for this disease, but they have not yet existed. So far, the mice overexpressed or humanized with transthyretin, or mice modified with proteins involved in amyloid formation and deposition have been created as transgenic mice, but these mice did not form amyloid at all, or even if amyloid fibrils were formed, they were not derived from transthyretin, or they were too small to cause cardiac dysfunction. Against this background, it was considered that the establishment of an animal model of ATTRwt cardiac amyloidosis required a complex analysis method that obtains information necessary for understanding the disease from human samples and simultaneously confirms basic data from cell experiments. Currently, after IRB review in our institution, we have started to collect unfixed frozen myocardial biopsy samples from ATTRwt patients (5 cases), which are planned to be analyzed for lipid composition and distribution around amyloid deposition in cardiac tissue. In addition, in order to examine for pathological gene mutations, mainly molecules that contribute to protein misfolding of transthyretin, gene mutation information is comprehensively obtained from whole blood samples of patients (30 cases). As soon as a sufficient number of samples have been collected, detailed analysis will be carried out individually. Elucidation of the mechanism underlying abnormal accumulation and toxicity of transthyretin amyloid using cultured cells (cardiomyocytes and cardiac fibroblasts) is also indispensable for establishing an animal model. In a joint study with the neurology department of Kumamoto University, we now use transthyretin fragments that form fibers that closely resemble real ATTRwt amyloid fibrils to determine how stress changes occur in cardiomyocytes and cardiac fibroblasts. Several representative inflammatory markers have been confirmed to be enhanced, and based on this experimental system, we plan to knock down candidate molecules obtained by genetic analysis using siRNA to elucidate the molecular mechanism.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2019000008-20190381

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	専任講師(有期・医学部)	補助額	1,000 千円
	氏名	遠藤 仁	氏名(英語)	Jin Endo		
研究課題(日本語)						
心アミロイドーシスの病態形成に関わる組織環境変化の解明						
研究課題(英訳)						
Elucidation of alterations in tissue environment related to pathogenesis of cardiac amyloidosis						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
遠藤 仁 (Jin Endo)		医学部循環器内科講師				
杉浦 悠毅 (Yuki Sugiura)		医学部医化学教室講師				
佐野 元昭 (Motoaki Sano)		医学部循環器内科准教授				
北方 博規 (Hiroki Kitakata)		医学部循環器内科助教				
伊倉 秀彦 (Hidehiko Ikura)		医学部循環器内科助教				
1. 研究成果実績の概要						
<p>野生型トランスサイレチン心アミロイドーシスは、変異のないトランスサイレチン蛋白が折りたたみ異常からアミロイド線維を形成し、心臓間質に病的な蓄積をきたし機能異常に至る疾患である。これまで多くの研究で、本疾患のモデル動物の樹立が試みられたが、いまだ現存しない。過去に、トランスサイレチンの過剰発現やヒト化、あるいはアミロイド形成・沈着に関わる付随蛋白の修飾を加えたマウスが作成されたが、アミロイドを形成しない、または形成してもトランスサイレチン由来のアミロイドではない、またはわずかに過ぎて機能異常をきたすまでには至らなかった。このような背景から本疾患の動物モデルの樹立には、本疾患の理解に必要な情報をヒトサンプルから入手し複合的にアプローチする必要があると考えた。現在、当施設のIRB審査を受けたのち、患者サンプルとして未固定の心筋生検凍結サンプルを集積している(5例)。また、蛋白の折りたたみ異常をきたしうる蛋白などに異常がないか調べるため、患者の血液サンプルから全エクソーム解析で遺伝子変異情報を網羅的に入手している(30例)。サンプル数がまとまり次第、個々に詳細な解析を進めていく予定である。また、培養細胞(心筋細胞および心臓線維芽細胞)を用いたトランスサイレチンアミロイドの蓄積機構および有毒性の分子機構の解明も動物モデルの樹立には必須である。我々は現在、熊本大学神経内科との共同研究で、ATTRwtと類似したアミロイド線維を形成するトランスサイレチンのフラグメントを用いて、心筋細胞および心臓線維芽細胞にどのようなストレス変化が生じるか評価を行なっている。いくつかの代表的な炎症マーカーが亢進することを確認しており、この実験系をもとに遺伝子解析で得られた候補分子についてKDを行ない分子機構の解明を行なう予定である。</p>						
2. 研究成果実績の概要(英訳)						
<p>Wild-type transthyretin (ATTRwt) cardiac amyloidosis is a disease in which transthyretin without pathogenic mutation forms amyloid fibrils from protein misfolding, resulting in pathological accumulation at the cardiac interstitium leading to cardiac dysfunction. Numerous studies have attempted to establish animal models for this disease, but they have not yet existed. So far, the mice overexpressed or humanized with transthyretin, or mice modified with proteins involved in amyloid formation and deposition have been created as transgenic mice, but these mice did not form amyloid at all, or even if amyloid fibrils were formed, they were not derived from transthyretin, or they were too small to cause cardiac dysfunction. Against this background, it was considered that the establishment of an animal model of ATTRwt cardiac amyloidosis required a complex analysis method that obtains information necessary for understanding the disease from human samples and simultaneously confirms basic data from cell experiments. Currently, after IRB review in our institution, we have started to collect unfixed frozen myocardial biopsy samples from ATTRwt patients (5 cases), which are planned to be analyzed for lipid composition and distribution around amyloid deposition in cardiac tissue. In addition, in order to examine for pathological gene mutations, mainly molecules that contribute to protein misfolding of transthyretin, gene mutation information is comprehensively obtained from whole blood samples of patients (30 cases). As soon as a sufficient number of samples have been collected, detailed analysis will be carried out individually. Elucidation of the mechanism underlying abnormal accumulation and toxicity of transthyretin amyloid using cultured cells (cardiomyocytes and cardiac fibroblasts) is also indispensable for establishing an animal model. In a joint study with the neurology department of Kumamoto University, we now use transthyretin fragments that form fibers that closely resemble real ATTRwt amyloid fibrils to determine how stress changes occur in cardiomyocytes and cardiac fibroblasts. Several representative inflammatory markers have been confirmed to be enhanced, and based on this experimental system, we plan to knock down candidate molecules obtained by genetic analysis using siRNA to elucidate the molecular mechanism.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			