



Title	Human induced pluripotent stem cell-derived three-dimensional cardiomyocyte tissues ameliorate the rat ischemic myocardium by remodeling the extracellular matrix and cardiac protein phenotype
Author(s)	横山, 淳也
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/85232">https://hdl.handle.net/11094/85232</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"＞</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜/a＞</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨  
Synopsis of Thesis

氏名 Name	横山 淳也
論文題名 Title	<b>Human induced pluripotent stem cell-derived three-dimensional cardiomyocyte tissues ameliorate the rat ischemic myocardium by remodeling the extracellular matrix and cardiac protein phenotype</b> (3次元ヒトiPS細胞由来心筋組織は移植後細胞外マトリックスおよび心臓関連蛋白が変化し、心筋虚血モデルを改善する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 近年、重症虚血性心筋症に対する再生治療の期待が高まっている。特に当科ではパラクライン効果のみならず心筋補充療法として期待されているヒトiPS細胞由来心筋シートの医師主導治験を開始した。しかし、心筋補充療法を確立するには十分な細胞数を伴う三次元心筋組織の構築および生着が必須であるが、厚みのある三次元心筋組織の作成や、移植後の三次元心筋組織への血流供給不足、免疫拒絶により生着が困難であると考えられている。我々のグループは血管内皮細胞の誘導に有効な足場であると報告されている細胞外マトリックスのフィブロネクチンを組織作成の足場としLayer-by-layer法による細胞集積を用いた3次元心筋組織を報告している。本研究では、虚血性心筋症ラットモデルに対して、フィブロネクチンを足場として作成した3次元心筋組織を移植し、血管新生により生着が促進され、また生着した後に、移植部位の環境にあった細胞外マトリックスに変化し、治療効果を増強させることを仮説とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 フィブロネクチン付加有無による3次元ヒトiPS細胞由来心筋組織の低酸素条件下での耐性についてin vitroで検討した。低酸素条件(02:5%, 72時間)では、フィブロネクチン付加群で有意に生存細胞数が増え、細胞障害性が低減された。フィブロネクチン付加していない組織は構造的に脆弱で組織化形成が困難であった。また次にフィブロネクチン付加3次元ヒトiPS細胞由来心筋組織の有用性をin vivoで評価した。F334/NJc1-run/run T細胞欠如免疫不全モデルラットを用い、7週齢で左前下行枝を結紮した虚血性心筋モデルを作成、2週後に移植を行った。3次元ヒトiPS細胞由来心筋組織群とsham群(各n=10)で比較検討した。移植後4週までを心臓超音波検査を用いて心機能評価をし、4週目に犠死し、傍梗塞領域におけるサイトカイン関連遺伝子および、血管新生の比較検討をした。心機能は3次元ヒトiPS細胞由来心筋組織群では有意に心機能改善を認めた。左室駆出率は3次元ヒトiPS細胞由来心筋組織群: 53.6±3.3%、sham群: 40.9±2.3%と有意(p<0.001)に改善していた。傍梗塞領域では3次元ヒトiPS細胞由来心筋組織群で有意にVEGFおよびHGFの発現が増強しており、血管新生も有意に増加していた。3次元ヒトiPS細胞由来心筋組織の細胞外マトリックスや細胞内蛋白をin vitroとin vivoの比較検討した。In vitroで認めたフィブロネクチンは移植後消失しており、その代わりin vitroで認めなかった基底膜細胞外マトリックスのcollagen IV、perlanが発現していた。また細胞骨格のdesmin、細胞質蛋白のdystrophinの発現がin vivoで正常組織に近い発現をしていた。また電気的結合を表すconnexin43もin vivoで増加していた。	
〔総括(Conclusion)〕 3次元ヒトiPS細胞由来心筋組織は移植後、血管新生を誘導し、生存生着後に付加していたフィブロネクチンが基底膜細胞外マトリックスにリモデリングし、心臓関連蛋白の変化を伴い虚血性心筋症モデルの心機能を改善することが示唆された。	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		横山 淳也	
論文審査担当者	(職)	氏	名
	主 査	大阪大学教授	澤 芳 樹
	副 査	大阪大学教授	坂 田 泰 史
	副 査	大阪大学教授	新 谷 康
論文審査の結果の要旨			
<p>ヒトiPS由来心筋移植を発展するには厚みのある3次元心筋組織移植の作成が必要である。本研究では細胞外マトリックスのfibronectinを用い作成した3次元ヒトiPS細胞由来心筋組織を心筋梗塞モデルへ移植することで、心機能評価および組織評価を行なった。心筋組織は電気伝搬が一定方向の組織であった。免疫不全モデルラットの心筋梗塞モデルを作成し、心筋組織移植後4週目に心機能改善を認めた。また移植した組織の梗塞周囲領域におけるサイトカイン関連遺伝子発現と血管新生を確認した。さらに組織評価ではfibronectinは消失し、移植前心筋組織には発現していなかったcollagenIV、perlecanといった基底膜細胞外マトリックスが局在をもって発現し、desmin、dystrophinといった細胞内蛋白が明瞭化しているのを確認した。3次元ヒトiPS細胞由来心筋組織は組織内の細胞外マトリックスの変化を伴いながら生着し、心機能を改善したことを証明したことは意義があり、申請者は学位の授与に値すると考えられる。</p>			