



Title	Pediatric Dilated Cardiomyopathy Caused by TNNT2-R151W Mutation: Modeling and Rescue in Patient-derived iPSCs and Engineered Heart Tissue
Author(s)	永島, 利章
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105714
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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	永島 利章
論文題名 Title	Pediatric Dilated Cardiomyopathy Caused by TNNT2-R151W Mutation: Modeling and Rescue in Patient-derived iPSCs and Engineered Heart Tissue (TNNT2-R151W変異による小児拡張型心筋症：患者由来iPS細胞と組織工学的手法を用いた病態モデル化と治療法探索)
論文内容の要旨 〔目的(Objective)〕 拡張型心筋症(dilated cardiomyopathy : DCM)は小児において最も頻度の高い心筋症であり、左室拡大および収縮機能低下を特徴とする。小児DCMは予後不良で心臓移植が唯一の根治的治療法とされるが、国内ではドナー不足により治療選択肢が制約され、病態に立脚した新規治療法の開発が喫緊の課題である。近年の遺伝学的解析の進展により、サルコメア関連遺伝子の病的変異が小児DCMでも高頻度に同定され、なかでもTNNT2変異は重症化や早期発症との関連性が示唆されている。一方で、変異特異的な分子病態や介入可能な治療戦略には課題が残る。iPS細胞技術の発展により患者特異的iPS細胞由来心筋細胞(iPSC-CMs)を用いたin vitroで疾患モデリングが可能となったが、小児は成人例と比較して発症年齢が早く、遺伝的要因の影響をより強く受けると考えられることから、成人例と異なる表現型を呈する可能性がある。本研究では、TNNT2-R151W変異を有する小児DCMを対象に、患者由来iPSC-CMsおよびengineered heart tissue(EHT)を用いて、その病態特性を解析し、治療介入の可能性を検討することを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 同一のTNNT2-R151W変異をもつ小児DCM患者2例の末梢血から末梢単核球を分離し、センダイウイルスベクターを用いてリプログラミングを行い、疾患特異的iPSC(R151W-iPSC)を樹立した。これらを心筋細胞(R151W iPSC-CMs)へ分化誘導し、サルコメア構造および細胞内カルシウム動態を評価した。加えて、PiggyBacベクターを用いて野生型TNNT2を過剰発現させた遺伝子補充株(wtTNNT2-OE-iPSC)を作製し、同様に心筋細胞(wtTNNT2-OE-iPSC-CMs)へ分化誘導して、TNNT2の発現量、サルコメア構造および細胞内カルシウム動態を比較した。各心筋細胞に発現するTNNT2のタンパク質量をsimple westernで定量評価したところ、wtTNNT2-OE-iPSC-CMsではR151W iPSC-CMsに対し3倍量以上の発現量を認めた。心筋細胞の免疫染色により、R151W iPSC-CMsではα-アクチニンの凝集を伴うサルコメア構造異常を認めた一方、wtTNNT2-OE-iPSC-CMsではα-アクチニンの凝集割合が改善していることを認めた。Ca指示薬Calbryte™590を用いたカルシウム動態では、R151W-iPSC-CMsでは蛍光振幅(Amplitude)の低下、ピーク到達時間(time to peak)および蛍光シグナルが100%から20%までの減衰時間(Tau)の延長を認め、収縮不全心筋に整合するCa²⁺ハンドリング異常を示した。これらの指標はwtTNNT2-OE-iPSC-CMsで改善した。さらに、心筋細胞からポリジメチルシロキサン製のpillarを用いてEHTを作製し、作製後14日目にEHTの動きをビデオ顕微鏡で撮像した、動画解析によりpillarの最大移動距離を算出しpillarの柔らかさ(ヤング率)、長さ、先端の直径を含めた既知パラメーターからなる計算式を用いて収縮力を算出したところ、wtTNNT2-OE-EHTではR151W-EHTに比して収縮力の改善を認めた。 〔総括(Conclusion)〕 TNNT2-R151W変異はiPSC-CMs及びiPSC-EHTにおいてサルコメア構造の異常、Ca²⁺感受性低下、収縮力低下を引き起こすが、野生型TNNT2過剰発現により形態学的・機能的異常が改善し、本変異に対する遺伝子補充療法の可能性が示唆された。患者由来iPSC-CMsおよびEHTからなる本モデルは、小児DCMの病態解明と治療法探索のための有用な基盤となり得る。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 永島 利章			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	宮川 繁
	副 査	大阪大学教授	新谷 康
	副 査	大阪大学教授	坂田 泰史

論文審査の結果の要旨

本研究は、小児の重症心疾患である拡張型心筋症について、その原因となる遺伝子異常 (TNNT2 変異) に着目し、培養細胞を用いた疾患モデルを構築した。これにより病態特性を解析し新たな治療の可能性を明らかにしたものである。TNNT2 変異を有する小児拡張型心筋症患者 2 名からそれぞれ iPS 細胞を樹立し、心筋細胞へ分化させて心筋組織を作製することで、心筋構造や収縮機能を詳しく解析した。その結果、TNNT2 遺伝子変異により心筋収縮に重要な細胞構造が乱れ、心臓組織の収縮能が低下することが示された。一方で、正常な TNNT2 遺伝子の発現を補うことで、これらの異常が改善することを見出し、将来的な遺伝子治療の可能性を示唆した。本研究は、小児拡張型心筋症の病態理解を深めるとともに、治療法開発への新たな道を開く重要な成果であり、学術的価値が高く、博士 (医学) の学位授与に値すると思われる。