

Title	In vitro platform of allogeneic stem cell-derived cardiomyocyte transplantation for cardiac conduction defects
Author(s)	吉田, 聡
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69395
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 吉田 聡

		(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授	坂田 泰史
	副 査	大阪大学教授	松本 泰志
	副 査	大阪大学教授	岡村 康司

論文審査の結果の要旨

本研究では、ラットiPS細胞から心筋細胞への分化誘導法を確立し、ラットiPS由来心筋細胞の電気生理学的特性を詳細に検討した。さらに、単離した新生仔ラット心筋細胞を用いて作成した房室ブロックin vitroモデルへのラットiPS由来心筋細胞の移植により、離れた2領域の興奮が同期する一すなわちラットiPS細胞由来心筋細胞により伝導が修復されることを示した。これまでも伝導修復モデルはいくつか報告されているが、多くは異種移植であり、同種移植での研究を行った点で本研究は独創性が高い。さらに、興奮伝導路としてのラットiPS由来心筋細胞の電気生理特性を明らかにし、生体心由来心筋細胞からなる伝導路とは特性が異なることを示した点において新規性が高く、将来的にiPS細胞由来心筋細胞の移植を行うに際しての重要な基礎的データになりうると考えられる。以上のことから、本研究は学位論文に値するものと認める。

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	吉田 聡
論文題名 Title	<i>In vitro</i> platform of allogeneic stem cell-derived cardiomyocyte transplantation for cardiac conduction defects (心臓伝導障害モデルに対する同種幹細胞由来心筋細胞の移植プラットフォームの構築)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>しばしば重篤な転帰をとる完全房室ブロックに対するペースメーカー治療においては、非生理的な心尖部ペーシングによる心不全増悪や感染症などが問題となることがあり、新規治療法開発が期待されている。幹細胞由来心筋細胞移植による心臓伝導障害治療が提唱されているが、これまでの研究の多くは異種移植であり、同種移植の報告は極めて少ない。さらに、幹細胞由来心筋細胞と生体由来心筋細胞の興奮伝播特性を詳細に検証した報告は極めて少ない。そこでわれわれは、同種iPS細胞由来心筋細胞と生体由来心筋細胞による<i>in vitro</i>細胞移植評価プラットフォームを構築し、心臓伝導障害に対する再生治療法の可能性を検証することを目的とした。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>動物種としてはラットを用いた。未分化ラットiPS細胞(riPSC)を心筋細胞(riPSC-CM)へと分化誘導するために、胚様体形成法に加え、心筋発生において重要な成長因子であるActivin A, BMP-4, IWP-2を組み合わせて投与した。フローサイトメトリーによる解析では、74.0%の細胞がトロポニンT陽性であった。免疫染色ではサルコメア構造が見られ、riPSC-CM間あるいはriPSC-CMとラット新生仔心室筋細胞(NRVM)の間にコネクシン43の発現が見られた。Ca²⁺感受性色素(Rhod4)と膜電位感受性色素(di-8-ANEPPS)を用いたライブセルイメージングを行ったところ、riPSC-CMのCa²⁺トランジェント波形および活動電位波形は生体由来心筋細胞に類似するものであった。また、イソプロテレノール負荷によって自己拍動数が増加し、カルバコール負荷によって拍動数は減少した。</p> <p>次に、電極付き培養皿上でNRVMを離れた2つの領域に播種し、<i>in vitro</i>での心臓伝導障害モデルを作成した。その間隙領域にriPSC-CMを移植することで、伝導を修復することが可能か検証した。セルモーショニメージングシステムを用いて経時的に観察すると、riPSC-CM移植後3日目からriPSC-CMを介した拍動伝播が起こっているため、riPSC-CM移植部位は興奮伝導路としての機能を有する可能性が示唆された。次いで、移植部位におけるdi-8-ANEPPSを用いた膜電位イメージングを行ったところ、NRVM領域からのペーシングで、riPSC-CM伝導路において両方向性の興奮伝播が見られた。riPSC-CM伝導路はNRVM伝導路に比して伝導速度の低下、最大立ち上がり速度の低下、活動電位持続時間の延長を示した。さらに、MED64システムを用いた電気生理検査にて、riPSC-CM伝導路はNRVM伝導路に比して興奮伝導時間の延長と機能的不応期の延長を示した。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>房室ブロックを模した<i>in vitro</i>プラットフォームを構築し、同種iPS由来心筋細胞を移植し、心臓伝導障害に対する細胞移植治療の可能性を検証した。iPS細胞由来心筋細胞移植は、心臓伝導障害に対する新規治療法となる可能性が示唆された。</p>	