

Title	Laminin21 enhances therapeutic effects of hiPS-CMs derived 3-dimensional engineered cardiac tissue transplantation in a rat ischemic cardiomyopathy model
Author(s)	佐村, 高明
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/77569
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	佐村 高明
論文題名 Title	Laminin221 enhances therapeutic effects of hiPS-CMs derived 3-dimensional engineered cardiac tissue transplantation in a rat ischemic cardiomyopathy model (ラミニン221を用いたヒトiPS細胞由来心筋組織移植の虚血性心筋症モデルに対する有効性評価)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>虚血性心筋症に対するヒトiPS細胞由来心筋細胞シート移植治療は、心筋補充療法としての再生医療であり、期待が高まっている。当科では、虚血性心筋症に対するヒトiPS細胞由来心筋細胞シート移植を、医師主導型治験としてFirst in Human試験を行った。しかし、ヒトiPS細胞由来心筋細胞シートの移植後生着は十分でなく、ヒトiPS細胞由来心筋シート移植の心筋補充療法としての治療効果を十分に引き出すためには、移植後心筋組織の生着増強が必要である。ヒトiPS細胞由来心筋細胞シートの生着増強を達成するためには、移植心筋組織への血液供給の改善、免疫拒絶の抑制、心筋細胞の生存に必要な細胞外マトリックスの付加が重要である。特に心筋細胞に特異的な細胞外マトリックスであるラミニン221は、心筋細胞表面に発現しているインテグリン$\alpha7\beta1$と結合することにより、outside-inシグナル伝達を活性化し、抗アポトーシス作用により、心筋細胞の生存に寄与することが報告されている。</p> <p>本研究では、虚血性心筋症ラットモデルに対するラミニン付加ヒトiPS細胞由来心筋組織移植において、ラミニンの持つ抗アポトーシス活性により生着が促進し治療効果を増強させることを仮説とした。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>ラミニン221付加の有無による、ヒトiPS細胞由来心筋細胞(253G1)の運動機能、代謝機能、低酸素耐性、低酸素条件下におけるアポトーシス関連遺伝子発現の違いをin vitroで比較検証した。ラミニンコーティング培養皿の上で培養したiPS細胞由来心筋細胞をラミニン群、通常の培養皿で培養したiPS細胞由来心筋細胞をコントロール群とした。運動機能は、心筋細胞の収縮・拡張速度をCell motion Imaging Systemを用いて比較した。代謝機能はミトコンドリアにおける最大呼吸速度を比較した。低酸素耐性の評価は、低酸素条件($O_2$5%、72時間)での培養後に、生存細胞数、細胞傷害性を評価した。また、低酸素条件下で培養後に抗アポトーシス関連遺伝子(BCL2, BCL2L1)の発現を比較した。その結果、運動機能ではラミニン群で有意に収縮、拡張速度が増強し(収縮速度、ラミニン群:16.4\pm2.0 μm/sec vs コントロール群:11.1\pm3.4 μm/sec, p<0.001、拡張速度、ラミニン群:9.0\pm1.8 μm/sec vs コントロール群:6.1\pm2.5 μm/sec, p<0.002)、代謝機能ではラミニン群で有意に最大呼吸速度が増強し(ラミニン群:221\pm30 pmol/min vs コントロール群:172\pm19 pmol/min)、低酸素耐性ではラミニン群で有意に生存細胞数が増え、細胞傷害性が低減された。また、低酸素条件下において、ラミニン群で抗アポトーシス関連遺伝子であるBCL2、BCL2L1の発現が有意に増強した。</p> <p>次に、ラミニン付加ヒトiPS細胞由来心筋組織の有用性をin vivoで検証した。レシピエントにはF344/NJc1-rnu/rnu T細胞欠如免疫不全モデルラットを用いて、8週齢で左前下行枝を結紮し虚血性心筋症モデルを作成し、2週間後に移植を行った。ラミニン付加心筋組織移植群、心筋組織移植群、フィブリンシート移植群(各n=10)の3群で、移植後生着をBioluminescence imaging(移植ヒトiPS細胞由来心筋細胞株:201B7-luc7)を用いて評価し、心機能の推移を心エコー検査で移植後4週目まで評価した。また、傍梗塞部位におけるサイトカイン関連遺伝子発現と血管新生の違いも比較検討した。心筋組織の生着は、ラミニン付加心筋組織群で移植後3日目に有意に増強しており、7日目においても生着増強傾向を認めた。また、心機能はラミニン群で移植後4週目において、その他の2群と比較して有意に心機能の改善を認めた(左室駆出率:ラミニン付加心筋組織群:55.1\pm6.3% vs 心筋組織群:48.1\pm5.9% vs フィブリンシート群:34.8\pm2.5%, n=10; ラミニン付加心筋組織群 vs フィブリンシート群; p<0.001, ラミニン付加心筋組織群 vs 心筋組織群; p=0.016, 心筋組織群 vs フィブリンシート群; p<0.001)。傍梗塞部位におけるサイトカイン関連遺伝子の発現はラミニン群で有意に増強しており、また傍梗塞部位における血管新生も有意にラミニン群で増強を認めた。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>ヒトiPS細胞由来心筋組織にラミニンを付加することにより、心筋細胞の構造機能・ミトコンドリア機能・抗アポトーシス活性は増強し、組織生着は改善され、治療効果を増強した。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 佐村 高明	
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 奥 山 宏 臣
	副 査 大阪大学教授 土 岐 祐 一 郎
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>ヒトiPS細胞由来心筋組織移植による治療効果を向上させる為には、移植心筋組織の生着改善が必要である。本研究では、細胞外マトリックスの重要な構成要素の1つで、心筋細胞生存に寄与するラミニン221を用いた、ヒトiPS細胞由来心筋組織移植の虚血性心筋症モデルに対する有効性評価を行った。ラミニン221のヒトiPS細胞由来心筋細胞への影響評価では、運動機能は収縮、拡張速度が増強、代謝機能はミトコンドリアにおける最大呼吸速度が増強、低酸素条件下における生存細胞数増加、細胞傷害性低減、また低酸素条件下における抗アポトーシス関連遺伝子であるBCL2、BCL2L1の有意な発現増強を認めた。次にラミニン221の心筋組織移植への影響評価では、免疫不全モデルラットを用いて虚血性心筋症モデルを作成し、心筋組織移植を行った。ラミニン221を付加した心筋組織移植群、心筋組織移植群、コントロール群の3群で、移植後生着、心機能を評価した。ラミニン221付加により移植心筋組織の生着改善と移植後心機能の改善増強を認めた。また、傍梗塞部位におけるサイトカイン関連遺伝子発現と血管新生もラミニン221付加により増強した。ラミニン221はヒトiPS細胞由来心筋組織移植による再生効果の増強に関与することが示された。</p> <p>以上の結果から、申請者は学位の授与に値すると考えられる。</p>	