



Title	Phenotypic recapitulation and correction of desmoglein-2-deficient cardiomyopathy using human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes
Author(s)	志波, 幹夫
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/85337
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

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	志波 幹夫
論文題名 Title	Phenotypic recapitulation and correction of desmoglein-2-deficient cardiomyopathy using human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes (iPS分化心筋細胞を用いたデスモグレイン2欠損心筋症の病態解明)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 拡張型心筋症は様々な遺伝子変異により生じる多様な疾患である。デスモグレイン2 (<i>DSG2</i>) は心臓組織における接着斑 (デスモゾーム) を構成する遺伝子のひとつであり、 <i>DSG2</i> 遺伝子変異は不整脈原性心筋症の原因として知られ、多くの症例がヘテロ接合型変異により発症する。若年発症重症心不全症例において新たに同定されたデスモグレイン2欠損心筋症に対し心筋病理解析、及び疾患iPS分化心筋細胞を用いた疾患の再現と病態解明を行った。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 今回我々は、特発性拡張型心筋症と診断され、難治性心室性不整脈及び両心室拡大を呈した症例に遺伝解析を行い、ホモ接合型 <i>DSG2</i> ナンセンス変異(c. C355T, p. R119X)を同定した。左室補助人工心臓植込み手術時に得られた左室心筋検体を用いて免疫染色を行ったところ、心筋組織介在板におけるデスモグレイン2の発現は完全に欠損し、心筋細胞における空胞変性像やデスモコリン2、プラコフィリン、プラコグロビン、デスモブラキンの空胞周囲への異常沈着像を認めた。透過型電子顕微鏡を用いて微細構造を観察したところ、顕著な介在板の離開像を認めた。本症例の病態メカニズムを解明するため、末梢血単核球からiPS細胞を樹立し (R119X-iPSC)、CRISPR-Cas9ゲノム編集技術を用いて、相同組み換え修復(HDR)により片アレルの <i>DSG2</i> ナンセンス変異を正常に修復し、デスモグレイン2発現を回復させたアイソジェニックiPS細胞 (HDR-iPSC) を作成した。これらのiPS細胞を心筋細胞(CM)に分化させ、微小電極アレイを用いた電位解析を行ったところ、R119X-iPSC-CMでは異常電位の出現を認めたのに対し、HDR-iPSC-CMでは認めなかった。更に、自発性循環進行波刺激による三次元自己組織化リングを作成し、マイクロスケール圧縮強度測定装置を用いて解析したところ、R119X-iPSC-CMでは顕著な組織構造の脆弱性及び微弱な収縮力が観察され、これらのフェノタイプはいずれもHDR-iPSC-CMにおいて回復した。免疫染色、ウェスタンブロットにより解析したところ、R119X-iPSC-CMではHDR-iPSC-CMに比べてデスモコリン2の発現低下を認める一方で、それ以外のデスモゾーム関連タンパク質には明らかな差異を認めなかった。iPS分化心筋の組織形成過程を経時的に観察したところ、R119X-iPSC-CMでは心筋組織構造形成が阻害され、心筋線維の菲薄化を認め、透過型電子顕微鏡観察により、介在板構造の離開所見が認められたのに対し、HDR-iPSC-CMではこれらの異常は認められなかった。遺伝子補充による治療概念の実証のため、アデノ随伴ウイルスを用いて <i>DSG2</i> 遺伝子を導入したところ、デスモグレイン2発現回復により、R119X-iPSC-CMより作成した三次元自己組織化リングの収縮力が回復した。 〔総括(Conclusion)〕 デスモグレイン2欠損心筋症の同定、アイソジェニックiPS分化心筋を用いた病態解明、アデノ随伴ウイルスを用いた発現回復は、特発性拡張型心筋症と診断される症例における疾患層別化の重要性、及び今後の難治性心筋症に対する精密医療につながると考えられる。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 志波 幹夫			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	坂田 泰史
	副 査	大阪大学教授	木園 東一
	副 査	大阪大学教授	望月 香樹

論文審査の結果の要旨

本論文では若年発症重症心不全症例において、ホモ接合型*DSG2*ナンセンス変異(R119X)によるデスモグレイン2欠損心筋症を同定した。また、デスモグレイン2欠損心筋症に対する病理解析により、心筋内空胞形成、デスモゾーム関連タンパク質の分布異常、介在板の顕著な離解像を認めた。R119X-iPS分化心筋では、異常電位、心筋組織構造の脆弱性、心筋収縮力の減弱、心筋組織構造形成異常を認め、ゲノム編集によるデスモグレイン2発現の回復により、これらの表現型は改善した。アデノ随伴ウイルスによりデスモグレイン2遺伝子を導入したところ、三次元組織化リングにおける収縮力が回復した。これらの結果から特発性拡張型心筋症と診断される症例における疾患層別化の重要性、及び今後の難治性心筋症に対する精密医療につながると考えられ、博士（医学）の学位授与に値する。