The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	A Human iPSC-Derived Cardiomyocyte Model for TNNT2 Δ160E-Induced Cardiomyopathy
Author(s)	Kondo, Takumi
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/89491
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、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	近藤　匠巳
論文題名 Title	A Human iPSC-Derived Cardiomyocyte Model for *TNNT2* Δ160E-Induced Cardiomyopathy (*TNNT2* Δ160E変異が引き起こす心筋症のヒトiPS細胞由来心筋細胞モデル)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

肥大型心筋症の原因遺伝子の多くは、サルコメアを構成するThick filament、Thin filamentをコードする遺伝子であり、Thin filamentを構成するトロポニン遺伝子変異は、肥大型心筋症のおよそ1割に同定される。Thin filamentの遺伝子変異は、肥大型心筋症において拘束性障害や収縮力低下をきたすリスク因子であることが知られている。中でもトロポニンTをコードする*TNNT2*遺伝子におけるΔ160E変異は肥大型心筋症症例で同定された病原性の高い稀少変異であり、同変異をもつ症例の予後は不良である。しかし、トロポニン遺伝子変異がヒト心筋細胞においてどのように肥大型心筋症の病態形成に関わるのかは明らかでない。そのため我々は*TNNT2* Δ160E変異をもつ家族性肥大型心筋症症例から疾患特異的iPS細胞由来分化心筋細胞を作成し、アイソジェニック細胞との比較により病態を解明することを目的とした。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

我々は進行性の左室収縮障害をきたし重症心不全に至った家族性肥大型心筋症症例よりヘテロ接合型の3塩基欠損（c.478_480del）を同定した。結果としてグルタミン酸1分子の欠損を伴うΔ160E変異であり、過去文献ではトロポニンTのLinker部分の可動性が低下し、トロポニンCでのカルシウム親和性が亢進することが報告されている。また、本症例の右室心筋生検検体を用いた心臓組織染色において、コントロールとなる心筋症症例と比較して顕著な心筋細胞の肥大を認めた。次に我々はゲノム編集技術を用いてアイソジェニックiPS細胞を作成した。両アレルにΔ160E変異を導入したホモ接合型Δ160E株、また変異を修復したWT株を作成し、平面分化法を用いてヘテロ接合型Δ160E株、ホモ接合型Δ160E株、WT株の3株を心筋細胞へと分化誘導させた。ヘテロ接合型Δ160E iPS細胞由来分化心筋細胞はWT株と比較して細胞質カルシウム濃度の減衰時間が延長し、収縮動態における弛緩障害、多電極アレイにおけるField Potential Durationの延長および心筋細胞の肥大を呈した。さらにこれらの表現型はホモ接合型Δ160E株においてより顕著であった。ホモ接合型、ヘテロ接合型Δ160E株におけるカルシウム動態の異常とトロポニンのカルシウム親和性との関連を調べるため、正常iPS細胞由来心筋細胞にアデノ随伴ウイルスを用いて、カルシウム蛍光タンパクであるRGECOとトロポニンTの融合タンパクを強制発現させた。Δ160E変異トロポニンTは、サルコメア局所のカルシウム動態においてカルシウム濃度の減衰時間や上昇時間を延長させた。このことからΔ160E変異によりサルコメアにおけるカルシウムの滞留が生じ、細胞質のカルシウムトランジェントへ影響していることが考えられた。ハイコンテントイメージングシステムを用いた解析によりΔ160E iPS細胞由来分化心筋細胞、特にホモ接合型Δ160E株においてNFATc1の核内移行が亢進していることが判明し、Δ160E変異が変異トロポニンTの発現量に比例して肥大シグナルを活性化させていることが示唆された。またホモ接合型Δ160E株、ヘテロ接合型Δ160E株においてはカルシウム制御タンパクであるCaMKIIδのリン酸化、およびそのターゲットであるホスホランバンの17番スレオニンでのリン酸化も亢進していた。カルシウム感受性を低下させることが知られている没食子酸エピガロカテキン（EGCG）はΔ160E株において延長していたカルシウム濃度の減衰時間および収縮動態における弛緩時間を短縮させた。

〔総　括(Conclusion)〕

TNNT2 Δ160E変異は、サルコメア局所におけるカルシウム動態の異常から弛緩障害やカルシウム制御pathwayの亢進をもたらし肥大型心筋症の病態に寄与することが示され、アイソジェニックiPS細胞由来分化心筋細胞は肥大型心筋症の病態解明及び治療法開発のための有用なヒトモデルであると考える。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）
近藤　匠巳

		（職）	氏　　名	
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	坂田泰史	署　名
	副　査	大阪大学教授	望月秀樹	署　名
	副　査	大阪大学教授	妻木範行	署　名

論文審査の結果の要旨

本論文は進行性の左室収縮障害をきたし重症心不全に至った家族性肥大型心筋症症例においてトロポニンTをコードする遺伝子である*TNNT2*のΔ160E変異を同定し、同症例よりiPS細胞を樹立した。さらにゲノム編集を用いて作成したアイソジェニック株と比較検討することで、その変異の病態はサルコメアにおけるカルシウムイオンの滞留に伴うカルシウム動態の異常であることを明らかにし、治療法の探索としてエピガロカテキンガレートが病態を改善させる可能性があることを示した。本論文はヒト心筋細胞を用いて*TNNT2*のΔ160E変異の病態を解明した世界初の論文であり、その結果は同変異をもつ症例のみならず同様の病態を呈する他の変異モデルにおける病態の解明・治療法の探索にも応用することができる可能性がある。よって本論文は申請者である近藤匠巳の博士（医学）の学位授与に値する。