

Title	Engineered three-dimensional cardiac tissues maturing in a rotating wall vessel bioreactor remodel diseased hearts in rats with myocardial infarction
Author(s)	Nakazato, Taro
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/89546
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	中里 太郎
論文題名 Title	Engineered three-dimensional cardiac tissues maturing in a rotating wall vessel bioreactor remodel diseased hearts in rats with myocardial infarction (回転浮遊培養により成熟した三次元心筋組織はラット虚血心の再生を増強する)

論文内容の要旨

〔目 的(Purpose)〕

重症心不全に対する再生医療において、移植用三次元心筋組織の開発が進んでいる。より治療効果の高い移植用心筋組織を作成するためには、心筋細胞の成熟、組織の重厚化が必要である。回転浮遊培養システムは、培養液が流動することにより培養細胞、組織の周りのグルコース濃度を高値に維持し、培養液の流れによりシェアストレスをかけることができるという特徴があり、過去にはこのシステムを用いて、硝子軟骨の作成に成功したという報告がある。今回我々は、回転浮遊培養システムが三次元心筋組織内の細胞を成熟させ、組織を重厚化し、さらには治療効果も増強するということを仮説とし、研究を行なった。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

ヒトiPS細胞由来心筋細胞 2.0×10^6 個を6mm×6mmPLGAシートに播種して三次元心筋組織を作成し、2群（回転浮遊培養：RWV群、静置培養：Control群）に分けて7日間培養し、in vitro評価を行なった。また、免疫不全ラット心筋梗塞モデルに移植しin vivo評価を行なった。

その結果、RWV群の方が有意に厚みのある組織が得られた（RWV群 $413 \pm 42 \mu\text{m}$ 、Control群 $201 \pm 16 \mu\text{m}$ 、 $p < 0.01$ ）。遺伝子発現解析においても、RWV群の方が、Na、Ca、Kイオンチャネル関連遺伝子、Gap junction関連遺伝子、ミオシン関連遺伝子が有意に多く発現し、蛋白質定量評価においてもRWV群の方が、cardiac troponin Tやsarcomeric α actinin、connexin 43、MYH7が有意に多く合成されていた。また、多電極解析における伝導速度もRWV群の方が有意に速く、cell motion imaging systemにおける力学的特性評価においてもRWV群の方が有意に優れており、血管新生サイトカインの放出もRWV群が有意に多かった。このような組織成熟化のメカニズム解析として、Integrin-FAK、mTOR関連signaling pathwayの活性化を調べたところ、RWV群で同経路がControl群よりも有意に活性化されていた。

in vivoにおいては、RWV群はその他の群と比較して移植後左室駆出率の有意な改善を認め、傍梗塞領域での新生血管の有意な増加を認め、線維化率の有意な低下を認めた。

〔総 括(Conclusion)〕

回転浮遊培養によって三次元心筋組織は心筋細胞の成熟を伴いながら重厚化し、虚血性心筋症ラットモデルに対する治療効果を増強した。回転浮遊培養システムが重厚で機能的な移植用心筋片の作成に寄与する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 中里 太郎				
論文審査担当者	(職)	氏 名		
	主 査	大阪大学教授	宮川 繁	署 名
	副 査	大阪大学教授	坂田 泰史	署 名
	副 査	大阪大学教授	江口 英利	署 名

論文審査の結果の要旨

本論文では、ヒトiPS細胞由来心筋細胞で作成した心筋組織の重厚化、成熟化を回転浮遊培養装置を用いることで可能となるという仮説に基づいて研究が行われている。In vitroの結果では回転浮遊培養により作成した心筋組織の方が通常の培養方法のものよりも細胞生存率が高い、重厚な組織が得られ、心筋特異的タンパクの発現が有意に高く、力学的特性や電気生理学的特性も有意に優れており、血管新生サイトカインの放出も有意に多かった。さらに作成した心筋組織のラット心筋梗塞モデルへの移植も行い、回転浮遊培養で作成した心筋組織を移植した群は通常の培養方法で作成した心筋組織を移植した群と比較して移植後四週においてもより多くの移植心筋組織の残存を認め、左室線維化、左室駆出率の有意な改善を認めた。回転浮遊培養が心筋組織の重厚化、成熟化を可能とし、重厚で機能的な移植用心筋片の作成に寄与する可能性が示唆された。

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。