



Title	Study on Effect of Migratory-Behavior Driven Epigenetic Memory Formation on Cardiomyogenic Fate Commitment of Human Mesenchymal Stem Cells in Dendrimer-Immobilized Surface
Author(s)	Ayuningtyas, Dwi Fitria
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/91906
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (AYUNINGTYAS FITRIA DWI)	
Title	Study on Effect of Migratory-Behavior Driven Epigenetic Memory Formation on Cardiomyogenic Fate Commitment of Human Mesenchymal Stem Cells in Dendrimer-Immobilized Surface (デンドリマー培養面におけるヒト間葉系幹細胞の遊走由来エピジェネティック記憶を経た心筋細胞への運命決定に関する研究)
Abstract of Thesis Human mesenchymal stem cells (hMSCs) have become a promising cell source for regenerative therapies and tissue engineering. Culture surfaces with immobilized polyamidoamine dendrimers have been developed to regulate cellular behavior and, as a result, provide the ability to induce cellular functions such as differentiation potential in hMSCs. This study aims to understand the mechanism underlying cardiomyogenic lineage differentiation commitment of hMSCs related to cellular mechanotransduction and epigenetic modification through migratory behavior driven by dendrimer-immobilized surface. Moreover, through understanding the epigenetic regulation driven by cellular migratory behavior, this study also examined the suitable culture process to enhance the differentiation efficiency of hMSCs towards cardiomyogenic lineage on the dendrimer-immobilized surface. In the first chapter of this study, the migratory behavior of hMSCs on various generations of the dendrimer-immobilized surface was investigated in a time-dependent manner. The mechanotransduction process caused by substrate modification occurred and promoted intracellular signaling pathways within cells. In addition, the increase of nuclear deformation in hMSCs culture through mechanotransduction derived from the migratory behavior was also evaluated. The fifth generation of dendrimer (G5) surface was affected by decreased nuclear lamin expression and regulated global histone modification through suppression of H3K9me3 and up-regulation of H3K27me3 and H3K9ac. Thus phenomena of the cytoskeleton and nuclear skeleton reorganizations related to migratory changes on the dendrimer-immobilized surface are responsible for the integrated regulation of epigenetic formations through histone modification, which leads to switching differentiation commitment of hMSCs to smooth, skeletal, and cardiac muscle lineages. In the second chapter of this study, the further investigation of epigenetic formations driven by migratory-behavior changing during culture on the dendrimer-immobilized surface was developed, focusing on the G5 surface as a potential provider for cardiomyogenic differentiation commitment. The epigenetic regulation remarked by global histone modification markers of repressive (H3K9me and H3K27me3) and activating modifications (H3K9ac) shows the maintenance of epigenetic memory regulation on the cell aggregate passage culture. The maintenance of epigenetic memory through the serial passage of the cell aggregates was achieved and promotes the enhancement of differentiation commitment into the cardiomyogenic lineage. Comprehensively, this study provides an understanding of the role of epigenetic modification through migratory-cell behavior related to cellular mechanotransduction provided by dendrimer-immobilized surface to induce differentiation of hMSCs towards cardiomyogenic lineage. As for the prospects for this study, the synergistic effect between the most suitable culture methods on the dendrimer-immobilized surface and the addition of cardiomyogenic differentiation factors, such as TGF-β1, potential to be explored for the establishment of the most efficient methods in directed differentiation of hMSCs towards cardiomyogenic lineage.	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (AYUNINGTYAS FITRIA DWI)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	紀ノ岡 正博
	副 査	教授	渡邊 肇
	副 査	教授	藤山 和仁
	副 査	准教授	金 美海

論文審査の結果の要旨

本論文では、デンドリマー培養面におけるヒト間葉系幹細胞（hMSCs）の心筋細胞への運命決定に関する解明を目指し、培養中の細胞遊走に伴うエピジェネティックスに注目し、単細胞での平面遊走や自己形成された細胞集塊状態での立体的遊走が及ぼすメカノトランスダクションに伴うエピジェネティック記憶の変化、さらに、継代培養時でのエピジェネティック記憶の可塑性について検討を行っている。

第 1 章においては、様々な世代を有するデンドリマー培養面における hMSCs の遊走挙動について検討され、基質からのメカノトランスダクションにより細胞骨格や核骨格のリモデリングが生じ、ヒストン修飾を介したエピジェネティックスが変化し、hMSCs の平滑筋、骨格筋、心筋系への分化運命が切り替わることを示している。特に、第 5 世代デンドリマー培養面（G5 培養面）においては、細胞遊走に伴い、細胞骨格が活発にリモデリングされ、核内ラミン発現を減少させることを示している。さらに、グローバルなヒストン修飾マーカーの一つである抑制的修飾（H3K9me、H3K27me3）および活性化修飾（H3K9ac）について検討を行っており、H3K9me3 の抑制、H3K27me3 および H3K9ac の上昇を明らかにし、エピジェノミック記憶の変化および分化運命決定について論じている。

第 2 章では、心筋系への分化運命決定をもたらす可能性のある G5 培養面に着目し、H3K9me、H3K27me3 および H3K9ac について、細胞集塊状態におけるエピジェネティック記憶の制御と培養中の継代操作の観点から検討されている。特に、継代時に集塊形成した細胞を単分散・播種した継代を経た培養では、継代毎にエピジェネティック記憶は初期化される。一方、細胞集塊を保持したままで継代を経た培養では、エピジェネティック記憶が維持され、心筋系への分化運命決定が促進されることを示し、エピジェネティックスを介した運命決定制御機構について論じている。

以上のように、本論文は hMSCs のデンドリマー面上で細胞遊走に伴うメカノトランスダクションがエピジェネティック記憶を変化させ、さらに、集塊を保持したままの継代による培養は、記憶の維持が可能であることを示している。さらに、hMSCs の心筋系への分化運命決定の制御について論じており、細胞分化誘導の制御を目指す学問分野に新たな知見を与え、新規な培養方法を確立している。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。