



Title	Impaired relaxation in induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes with pathogenic TNNI3 mutation of pediatric restrictive cardiomyopathy
Author(s)	王, 仁傑
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/98613">https://hdl.handle.net/11094/98613</a>
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">大阪大学の博士論文について</a> 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	王 仁傑
論文題名 Title	Impaired relaxation in induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes with pathogenic <i>TNNI3</i> mutation of pediatric restrictive cardiomyopathy ( <i>TNNI3</i> 変異を持つ小児拘束型心筋症患者から樹立した人工多能性幹細胞由来心筋細胞における弛緩障害)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕	
<p><b>Background:</b> Restrictive cardiomyopathy (RCM) is characterized by impaired diastolic function with preserved ventricular contraction. Several pathogenic variants in sarcomere genes, including <i>TNNI3</i> are reported to cause <math>\text{Ca}^{2+}</math> hypersensitivity in cardiomyocytes (CMs) in overexpression models; however, the pathophysiology of induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived CMs specific to a patient with RCM remains unknown.</p> <p><b>Aim:</b> To elucidate the pathophysiology of RCM at the cellular level by using iPSC-derived cardiomyocytes.</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p><b>Methods:</b> We established an iPSC line from a pediatric patient with RCM and a heterozygous <i>TNNI3</i> missense variant, c.508C&gt;T (p.Arg170Trp; R170W). We conducted genome editing via CRISPR/Cas9 technology to establish an isogenic correction line harboring wild-type <i>TNNI3</i> as well as a homozygous <i>TNNI3</i>-R170W. iPSCs were then differentiated to CMs to compare their cellular physiological, structural, and transcriptomic features.</p> <p><b>Results:</b> CMs differentiated from heterozygous and homozygous <i>TNNI3</i>-R170W iPSC lines demonstrated impaired diastolic function in cell motion analyses as compared with that in CMs derived from isogenic-corrected iPSCs and three independent healthy iPSC lines. The intracellular <math>\text{Ca}^{2+}</math> oscillation and immunocytochemistry of troponin I were not significantly affected in RCM-CMs with either heterozygous or homozygous <i>TNNI3</i>-R170W. Electron microscopy showed that the myofibril and mitochondrial structures appeared to be unaffected. RNA sequencing revealed that pathways associated with cardiac muscle development and contraction, extracellular matrix-receptor interaction, and transforming growth factor-beta were altered in RCM-iPSC-derived CMs.</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p><b>Conclusions:</b> Patient-specific iPSC-derived CMs could effectively represent the diastolic dysfunction of RCM. Myofibril structures including troponin I remained unaffected in the monolayer culture system, although gene expression profiles associated with cardiac muscle functions were altered.</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 王仁傑

論文審査担当者	(職)	氏名
	主査 大阪大学教授	北島 康司
	副査 大阪大学教授	坂田 泰史
	副査 大阪大学教授	奥山 宏臣

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、難病である拘束型心筋症の小児患者から樹立したiPS細胞を用いて、iPS細胞から分化させた心筋細胞の特性を検証した論文である。小児拘束型心筋症は心臓の拡張機能が障害される特異な心筋症で、非常に予後が悪く、心臓移植でしか救命できないことも多い。我が国では心臓移植の件数は少なく、待機期間が長いため、拘束型心筋症の病態メカニズム解明は重要である。

本論文では、トロボニン4に病的な遺伝子変異を有する拘束型心筋症患者のiPS細胞に由来する心筋細胞は、細胞レベルで拡張機能が悪化していることを明らかにした。興味深いことに、筋原線維の構造には変化は認められず、心筋細胞の収縮拡張に重要な細胞内カルシウム動態についても変化は認められなかった。一方で、網羅的な遺伝子発現解析では、拘束型心筋症iPS細胞由来の心筋細胞では、それを遺伝子改変により修復した心筋細胞や、健常者由来心筋細胞と比較して、多くの遺伝子で発現変化が認められた。これらの遺伝子は、細胞外マトリクス形成や細胞接着、筋原線維形成に関わる遺伝子群が多く、またTGF $\beta$ シグナルに関連する遺伝子群の変化も認められた。今後、これらに関わるシグナル経路に介入することにより、拘束型心筋症の治療開発につながることが期待される。従って、本論文業績は学位の授与に値するものと考えられる。