

論文審査の結果の要旨

報告番号	乙第1246号	氏名	市村創
論文審査担当者	主査 清水公裕 副査 伊藤研一・新藤隆行・小野稔(東京大学)		

(論文審査の結果の要旨)

大動物への多能性幹細胞由来心筋細胞 (PSC-CM) 移植実験後に生じる心室性不整脈は、移植後12週で消失する一過性のものであることが過去の研究で示されている。移植後不整脈の原因としては、移植部位におけるリエントリーや、移植グラフトのもつ自動能が挙げられるが、近年の研究では自動能がその原因として有力視されている。PSC-CM 移植後不整脈は経時的に消失することがわかっていることから、この消失メカニズムは移植グラフトの何らかの変化が関与していると考えられる。そこで、市村はヌードラットに ES 細胞由来心筋細胞 (ESC-CM) を移植し、2週、4週、12週間後の組織を免疫染色および RNA シークエンスを用いて解析することで、移植後不整脈が消失する原因を検討した。

その結果、以下の結果を得た。

- 1) バッチクランプ法で、分化誘導した ESC-CM の 8.9%が洞結節様 (Nodal-like)、残りが心室もしくは心房様波形を示した。心室、心房様波形を示す細胞は Working type と分類した。
- 2) ヌードラットへの移植後、12週間で MLC2v 陽性細胞の割合が有意に増加し、移植細胞が成熟化していると考えられた。
- 3) ヌードラットへの移植後の組織を洞結節特異的のマーカである SHOX2, TBX3, HCN4 の免疫染色を行い、いずれも 12週後で陽性細胞の割合が減少していた。
- 4) In vitro での ESC-CM の 3次元培養モデルにおいては、SHOX2, TBX3, HCN4 陽性細胞の割合は経時的に減少を認めなかった。
- 5) SHOX2, TBX3 陽性細胞は、移植後2週の時点でそれぞれの陰性細胞と比べ KI-67 の陽性率が低く、Nodal-like 心筋は Working type 心筋に比べ増殖能が低い可能性が示された。
- 6) RNA シークエンスを用いた網羅的発現遺伝子解析でも、In vivo, In vitro 実験の結果に矛盾しない結果を得た。

以上より、Nodal-like 心筋の割合が移植後生体内で経時的に減少し、その時期が移植後不整脈の消失時期と一致しており、また Nodal-like 心筋は Working type 心筋と比較して増殖能が低い可能性が示唆された。このことは、ESC-CM 内の Nodal-like 心筋混在による自動能が移植後不整脈の原因となっている可能性を示唆するものであった。この結果をもとに更なる研究を行うことによって、より安全性の高い心筋再生療法の開発につながっていくと考えられる。したがって、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。