

京都大学	博士 (医学 )	氏 名	横 尾 憲 孝
論文題目	<b>The effects of cardioactive drugs on cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells</b> (ヒト iPS 細胞由来心筋細胞に対する心臓作動薬の効果)		
(論文内容の要旨) 近年開発されたヒト人工多能性幹細胞 (ヒト iPS 細胞) は多分化能を有し、全身のあらゆる細胞に分化できる可能性が示されている。ヒト iPS 細胞を特定臓器細胞に分化させることにより、細胞移植治療などの再生医療や、特定臓器細胞に対する薬剤効果や副反応などのスクリーニングへの利用が期待されている。 循環器領域においてもヒト iPS 細胞は、心筋細胞への薬剤効果、薬剤スクリーニングへの利用が期待されている。しかし、その利用にあたっては、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞と正常ヒト心筋細胞が同等の薬剤反応性を示すことが必要条件であるが、現在まで、遺伝子導入を行って作製したヒト iPS 細胞に由来する心筋細胞が、正常ヒト心筋と同等の薬剤反応性を示すことを証明した報告はなされていない。この問題点を踏まえ、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞の薬剤反応性を心拍出量を規定する収縮頻度、収縮の大きさの二点について心臓作動薬薬効分類 (Vaughan Williams 分類) に基づいて比較評価した。 未分化ヒト iPS 細胞を 7 日間浮遊培養を行い胚様体 (Embryoid Body (EB)) を形成、その後ゼラチンコートした培養皿の上に EB を播種し培養を継続した。培養開始 30 日目ごろより、心筋細胞を含むと思われる規則的拍動を有する収縮コロニーを得た。収縮コロニーが機能的な心筋細胞を有することは、RT-PCR、免疫染色、また電気生理学的手法で証明し、分化心筋マーカーを有する心筋細胞が確認できた。この分化過程における遺伝子発現は胎児の心臓発生の遺伝子発現と同様のパターンを示し、出現した心筋細胞が、胎児心筋レベルまでの過程ではあるが、正常心臓発生を再現している可能性を示唆していると考えられた。 次に、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞にアドレナリン、イソプロテレノール、プロプラノロール、プロカインアミド、メキシレチン、フレカイニド、ベラパミル、アミオダロンの 8 薬剤の負荷を行い、収縮頻度と大きさの変化の評価を行った。結果は、Vaughan Williams 分類の示す薬剤反応性、ならびに臨床で一般的に知られている薬剤反応性と矛盾しない結果を得た。以上の内容より、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞の成熟度かつ未熟性の問題点が大きく残るが、ヒト心筋細胞の薬剤反応を検証するモデル系となりうることを示す可能性を示唆した結果であると考えられた。			

(論文審査の結果の要旨)

循環器領域においてヒト iPS 細胞利用の一つとして、新薬開発が期待されている。しかし、その利用にあたり、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞が正常ヒト心筋細胞と同等の薬剤反応性を示すことが必要条件であるが、本論文発表までこの問題を検討した報告はみられなかった。これを踏まえ、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞の薬剤反応性を心臓作動薬薬効分類 (Vaughan Williams 分類) と比較評価した。

未分化ヒト iPS 細胞を胚様体 (Embryoid Body (EB)) 作製後に継続して接着培養し、規則的拍動する心筋収縮コロニーを得た。この分化過程は胎児心筋レベルまでの過程ではあるが、心臓発生の遺伝子発現と同様のパターンを示し、正常心臓発生を再現している可能性を示唆した。次に、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞にアドレナリン、イソプロテレノール、プロプラノロール、プロカインアミド、メキシレチン、フレカイニド、ベラパミル、アミオダロンの 8 薬剤を用い、収縮頻度と大きさの変化を評価した。結果、Vaughan Williams 分類の示す心筋薬剤反応性と矛盾しない結果を得た。

以上の内容より、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞がヒト心筋細胞の薬剤反応を検証するモデル系となる示す可能性を示唆した結果であると考えられた。

以上の研究はヒト iPS 細胞由来心筋への薬理作用の解明に貢献しヒト iPS 細胞の臨床応用に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 24 年 12 月 3 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、一部十分な回答が得られなかった点に関してレポートによる回答を請求し、的確な回答を得た為、合格と認められたものである。