

京都大学	博士 (医学)	氏 名	笠本 学
論文題目	Am80, a retinoic acid receptor agonist, activates the cardiomyocyte cell cycle and enhances engraftment in the heart (レチノイン酸受容体アゴニストである Am80 は心筋細胞の細胞周期を活性化し心臓への生着を増強する)		
(論文内容の要旨)			
<p>本国においては末期重症心不全の根治治療として行われる心臓移植の臓器提供は他国と比べ非常に少ない現状がある。ヒト人工多能性幹細胞由来心筋細胞(hiPSC human induced pluripotent stem cell derived cardiomyocyte)は再生医療の有望な供給源として期待されている。しかし、心機能の改善を目指すためには相当量の心筋細胞が心臓内の傷害部位に生着する必要があると思われる。</p> <p>当研究室(京都大学 iPS 細胞研究所 増殖分化機構研究部門吉田研究室)のこれまでの研究結果から、移植した心筋細胞の細胞周期と移植片の大きさとの間に関係性があることが推定されていた。そのため、細胞周期の進行をリアルタイムで可視化するために、蛍光プローベ FUCCI(Fluorescent Ubiquitination-based Cell Cycle Indicator)を hiPSC に導入した。FUCCI システムは細胞周期の周期特異的に発現するタンパク質を蛍光標識することにより S/G2/M 期には核が緑色に発色、一方 G1 期には核が赤色するシステムである。FUCCI を導入後の iPS 細胞由来分化心筋細胞を観察したところ、分化・成熟の過程で緑色、無色を経て赤色と進行し赤色のまま留まる心筋と再び緑へ戻る増殖能の高い心筋が混在していることが明らかになった。</p> <p>心筋細胞の細胞周期と生着能の関連を調べるため、「赤色の心筋細胞」をフローサイトメーターにより選別し心筋梗塞マウスモデルに移植した場合と「赤色ではない心筋細胞」を選別し移植した場合の移植片の大きさを移植後 3 か月にて比較したところ、「赤色ではない心筋」を移植した場合に有意に移植片が大きいことが明らかになった。以上のことから、増殖能の高い心筋細胞を移植することにより移植片サイズの増大が得られる可能性が示唆された。</p> <p>次に、この細胞株を用いて心筋細胞の細胞増殖を惹起するような化合物を in vitro ハイスクリーン法にて探索した。4000 種類以上の化合物ライブラリーの中よりレチノイン酸受容体アゴニストである Am80 を心筋細胞に対する効果的な細胞周期を変</p>			

(論文審査の結果の要旨)

化させる化合物として同定することに成功した。そこで、Am80 で前処理した心筋細胞を、心筋梗塞マウスモデルへ移植したところ、有意に心筋細胞の生着と移植片の増大が促進されていることが明らかになった。また、移植片は特に心筋梗塞後の心臓障害部位に多く分布していることも確認され、移植前に Am80 を心筋細胞に作用させ細胞周期を変化させることにより、心臓障害部位への生着を促進することができることも明らかになった。

最後に Am80 で処理した心筋細胞の遺伝子発現の変化を、RNA シークエンスを用いて調べたところ RARA(レチノイン酸受容体 $\alpha$ )と RARB(レチノイン酸受容体 $\beta$ )を介した内因性 Wnt 経路の活性化が Am80 処理による細胞周期変化のメカニズムであることが明らかとなった。

本研究は、梗塞心臓への心筋細胞移植における移植心筋細胞の細胞周期と生着能の関連を明らかにし、細胞移植治療時に移植片サイズを有意に増大させる方法として移植前短期間の Am80 処理が有用であることを示し、今後の虚血性障害心臓に対する iPS 細胞由来心筋細胞移植治療の開発において非常に有用な報告であると考えられる。

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、令和 6 年 1 月 10 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降