

Title	Modelling Torsade de Pointes arrhythmias in vitro in 3D human iPS cell - engineered heart tissue(Abstract_要旨)
Author(s)	Kawatou, Masahide
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2018-03-26
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k20978
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士 (医学)	氏名	川 東 正 英
論文題目	Modelling Torsade de Pointes arrhythmias <i>in vitro</i> in 3D human iPS cell-engineered heart tissue (ヒト iPS 細胞による三次元心臓組織を用いた Torsade de Pointes (トルサード・ド・ポアント) 型不整脈の再現)		
(論文内容の要旨)			
<p>薬剤誘発性の致死性不整脈は創薬において重大な問題であり、創薬コスト削減のためにも早期の研究段階で催不整脈性の有無についてのスクリーニングを行えることが重要である。これまでの単一細胞の二次元培養を用いた薬物安全性試験では、心電図での QT 時間に相当する再分極時間の延長や細胞外電位測定における一時的な電気活動の不整は観察されるものの、細胞の集合体である心臓組織における動態である持続性のリエントリー型の不整脈は再現できていない。</p> <p>本研究では、ヒト iPS 細胞由来の三次元心臓組織において、リエントリー型不整脈の電気的活動を誘発し可視化することで、薬剤応答性の致死性不整脈を <i>in vitro</i> で再現しうるモデルを確立することを目的とした。</p> <p>心室性不整脈を発症する心筋症患者の病理所見では、心筋細胞が減り、繊維組織が増加している。このことから、iPS 細胞由来の心筋細胞と間葉系細胞を混合し、あえて心筋細胞の含有率を減らすことにより、不整脈を起こしうる組織が作製できると考えた。ヒト iPS 細胞から、心筋細胞と間葉系 (非心筋) 細胞をそれぞれ分化誘導し、これらを混合させたのちに温度感受性培養皿に播種して、三次元構造を持つ心臓組織シートを作製した。この心臓組織シートの細胞外電位を多点電極装置で測定し、同時に生細胞イメージングシステム (モーションベクター) を用いて、細胞の動きを観察した。QT 延長作用を持つ IKr チャンネル遮断薬 (E-4031) の投与により、多型性のリエントリー型不整脈の一種で、致死性である、Torsade de Pointes (TdP: トルサード・ド・ポアント) 型の不整脈に典型的な細胞外電位波形が観察されると同時に、モーションベクターにおいて、TdP の特徴であるリエントリー波形の中心の揺れ動き現象 (ミアンダリング) が観察された。この結果は、複数の iPS 細胞ラインにおいて再現可能であった。これらの結果から、ヒト iPS 細胞由来の心筋と非心筋を混合させた三次元心臓組織シートにより、薬剤誘発性の致死性不整脈を再現しうる事が示された。</p> <p>このモデルに対して、これまで臨床において催不整脈性が報告されているシサブライドあるいはフレカイニドを投与したところ、E-4031 と同様に、TdP 型の不整脈を再現することができた。</p> <p>次に、このモデルを用いて TdP 発生に寄与する因子につき検討した。TdP 発生率は、心筋・非心筋を均等に混合させて作製したシートでは 80% (12/15) であったが、心筋細胞のみのシートでは 0% (0/18) であった。(P<0.001) また二次元培養では、心筋・非心筋混在条件であっても 30% (3/10) と低率であった。(P<0.05)。これらの結果より、細胞成分の不均一性および三次元構造が、TdP 再現に必要な因子であることが示唆された。さらにその分子メカニズムを検討するため、心臓組織シートにおけるギャップ結合を示す Cx43 の発現を組織学的に調べたところ、Cx43 は心筋に主に局在しており、不均一な構造をもたらしていた。このことから、心臓組織シート内のギャップ結合の不均一性が電気伝導を阻害し、不整脈のもととなるマイクロリエントリーの形成につながると考えられた。</p> <p>本研究の不整脈モデルは、致死性心室性不整脈の病態の解明および今後の創薬研究に広く貢献できる可能性がある。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

薬剤誘発性の致死性不整脈は創薬において重大な問題であり、創薬コスト削減のためにも早期の研究段階での催不整脈性の有無についてのスクリーニングが重要である。

本研究では、ヒト iPS 細胞由来の三次元心臓組織を用いて、薬剤性の致死性不整脈を *in vitro* で再現することを目的とした。ヒト iPS 細胞から、心筋細胞と間葉系 (非心筋) 細胞を個別に分化誘導後、混合して温度感受性培養皿に播種し、三次元構造を持つ心臓組織シートを作製した。この心臓組織シートの細胞外電位と生細胞の動きを同時に観察した。QT 延長作用を持つ IKr チャンネル遮断薬 (E-4031) の投与により、多型性の致死性リエントリー型不整脈の一種である Torsade de Pointes (TdP) 型の細胞外電位波形が観察されると同時に、TdP の特徴であるリエントリー波形の中心の揺れ動き現象が観察された。また TdP 発生に寄与する因子を検討した結果、心筋細胞と非心筋細胞という不均一な細胞成分が三次元構造を取ることが重要であった。さらにギャップ結合を示す Cx43 は心筋に主に発現しており、この不均一性が電気伝導の阻害とマイクロリエントリー形成による TdP 発生につながり、また TdP 維持に必要な機能的な中心の揺れ動きに適した構造をもたらすと考えられた。

本研究の不整脈モデルは、致死性心室性不整脈の病態の解明および今後の創薬研究に広く貢献できる可能性がある。

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、平成 30 年 1 月 17 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