

Banyu Foundation Research Grant 2012—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	信州大学医学部循環器内科
氏 名	柴 祐司
研究テーマ	新規3次元培養システムを用いた iPS 細胞による心筋再生療法の開発

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

心筋梗塞に対する薬物療法および血行再建術は飛躍的に進歩しているものの、依然虚血性心疾患は日本国内だけでなく世界的にも主要な死亡原因である。これは、現状の治療法は、症状を緩和し、病気の進行を遅らせることは出来るものの、傷害された心臓そのものを修復することが出来ないことに起因している。そこで、多能性幹細胞を用いた再生医療によって、傷害され、線維組織に置換された心筋を再生させる試みがなされている。一般的な心筋梗塞によって約10億個の心筋細胞が喪失するといわれており、これを移植細胞で補うためには大量の心筋細胞を作製するだけでなく、生着効率の良い移植方法の開発が重要である。また、たとえ再生医療によって心筋が再生しても、既存の心筋細胞と電氣的に統合し、協調して収縮しない限り心収縮力は改善しない。そこで、本研究では、新たな細胞移植方法の試みとして、申請者らが開発した3次元培養法による心筋細胞移植を行い、細胞の生着効率と電氣的統合について、従来からの直接注射による移植方法と比較することにより検討した。

移植細胞の電氣的統合を評価するために、ヒト iPS 細胞 (253G1) に対して AAVS1 領域特異的に蛍光 Ca センサー GCaMP 遺伝子の導入を行った後、アクチビン A と BMP-4 を連続投与したところ、自律拍動ともに蛍光発色する心筋細胞の作製に成功した。この細胞を3次元培養し、モルモットの心外膜側に免疫抑制剤投与下で移植し、2週間後に心臓を摘出した。摘出心臓をランゲンドルフ法で再灌流し、蛍光 CMOS カメラでイメージングを行ったところ、心電図周期と同期するグラフト心筋細胞の蛍光発色は見られなかった。組織評価では、心外膜側に生着したグラフト心筋細胞が認められたものの、残存細胞は少なく、また宿主心筋細胞と離れた部位であった。

3次元培養による細胞移植は、従来からの直接注射による移植法と比べ細胞の生着効率と電氣的統合において優位性は示されず、更に新しい技術の開発が必要と考えられた。

Banyu Foundation Research Grant 2012—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <発表実績/予定一覧>

所	属	信州大学医学部循環器内科
氏	名	柴 祐司

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。 国内外雑誌を問わない。 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。
1	<u>Shiba Y</u> , Fernandes S, Minami E, Dupras KS, Van Biber B, Trinh P, Hirota Y, Gold DJ, Viswanathan M, and Laflamme MA. Electrical Integration of Human Embryonic Stem Cell-Derived Cardiomyocytes in a Guinea Pig Chronic Infarct Model. <i>JCPT</i> (in press)
2	Yamasaki S, Izawa A, <u>Shiba Y</u> , Tomita T, Miyashita Y, Koyama J, and Ikeda U Presence of diastolic dysfunction in patients with peripheral artery disease. <i>Angiology</i> (2013) 64, 540-543
3	<u>Shiba Y</u> , and Ikeda U Prostacyclin: a potential new target for endothelial progenitor cell-mediated angiogenesis. <i>Circ J</i> (2013) 77, 906-907
4	Saigusa T, Izawa A, Miura T, Ebisawa S, <u>Shiba Y</u> , Miyashita Y, Tomita T, Koyama J, Fukui D, Takano T, Amano J, and Ikeda U Low Levels of High-Density Lipoprotein Cholesterol Predict the Presence of Coronary Artery Disease in Patients With Aortic Aneurysms. <i>Angiology</i> (2013)
5	Kashima Y, Takahashi M, <u>Shiba Y</u> , Itano N, Izawa A, Koyama J, Nakayama J, Taniguchi S, Kimata K, and Ikeda U Crucial role of hyaluronan in neointimal formation after vascular injury. <i>PLoS One</i> (2013) 8, e58760
6	Matsuura K, Wada M, Shimizu T, Haraguchi Y, Sato F, Sugiyama K, Konishi K, <u>Shiba Y</u> , Ichikawa H, Tachibana A, Ikeda U, Yamato M, Hagiwara N, and Okano T Creation of human cardiac cell sheets using pluripotent stem cells. <i>Biochem Biophys Res Commun</i> (2012) 425, 321-327
7	<u>Shiba Y</u> , Fernandes S, Zhu W Z, Filice D, Muskheli V, Kim J, Palpant N J, Gantz J, Moyes K W, Reinecke H, Van Biber B, Dardas T, Mignone J L, Izawa A, Hanna R, Viswanathan M, Gold J D, Kotlikoff M I, Sarvazyan N, Kay M W, Murry C E, and Laflamme M A Human ES-cell-derived cardiomyocytes electrically couple and suppress arrhythmias in injured hearts. <i>Nature</i> (2012) 489, 322-325

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2013年10月	日本心電学会/シンポジウム、柴祐司、 iPS/ES 由来心筋細胞の細胞移植治療—動物実験—
2	2013年6月	ISHR 日本部会/シンポジウム、Yuji Shiba、 Human ES-Cell-Derived Cardiomyocytes Electrically Couple and Suppress Arrhythmias in Injured Hearts
3	2012年3月	日本循環器学会総会/プレナリーセッション、Yuji Shiba、 Human ES-Cell-Derived Cardiomyocytes Electrically Couple and Suppress Arrhythmias in Injured Hearts
4		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2014年8月	JMCC
2		
3		
4		