

**研究助成 2020 – 生活習慣病領域 –**  
**研究成果報告書（最終） <概要>**

<b>所 属</b>	東北大学大学院医工学研究科 分子病態医工学分野
<b>氏 名</b>	豊原 敬文
<b>研 究 テ ー マ</b>	ヒト iPS 細胞由来 3D 血管を用いた血管疾患の病態解明

- 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、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。  
（図表、写真などの貼付を含む）

**【研究目的】**

日々の臨床の中で同程度の糖尿病や高血圧、脂質異常症に罹患していても、一部の糖尿病患者は動脈硬化に罹患しやすく、一部の患者は罹患しにくいことが知られている。これまでこのような個人差が生じる機序についても遺伝子、環境要因、代謝的因子などの研究が進められてきたが未だ十分に明らかにされていなかった。申請者は最近患者 iPS 細胞由来血管細胞を用いて新規動脈硬化抑制因子を発見した（Cell Stem Cell 2020）。しかし、動脈硬化は全身血管の中でも腎動脈分岐部などの特定の部位に狭窄や閉塞を生じやすい特徴があることが知られてそのリスク因子についても明らかになっていない。そこで本研究では我々のヒト iPS 細胞由来血管細胞を用いた動脈硬化抑制因子の発見で用いた知見をさらに発展させて動脈硬化を特定部位に生じさせるリスク因子を解明し、将来的な治療を開発することを目的とした。

**【研究手法】**

特定部位に動脈硬化が生じやすい機序として血流の物理的刺激による影響が考えられるが従来の平面培養を主体とした研究ではその解析が（特にヒト由来細胞では）難しい。そこで、患者 iPS 細胞由来血管細胞から生体内動脈を模倣した 3D 血管を作製し、流体力学的刺激を与えて解析することを計画した。具体的には iPS 細胞由来血管平滑筋細胞をコラーゲンに包埋し管構造モールド内で固定させることで 3D 血管を構築し、還流することで炎症反応などの遺伝子や代謝物の変化を解析する。

**【研究成果】**

① iPS 細胞由来血管細胞を持ちたい 3D 血管灌流系の確立

iPS 細胞由来 3D 血管を作製し灌流培養することに成功した。また、3D 血管への封入細胞数は少なすぎると生体血管と比較して細胞密度が少なくなり、一方で多すぎると培地から距離のある中心部が細胞死するという問題点があった。このため播種細胞やコラーゲン比の最適化を行い、かつ培地交換の頻度や血管壁厚を調節することで生体内血管に類似した血管平滑筋細胞密度を有する 3D 血管を作製した。

② 血管灌流の力学的解析

In vitro 血管モデルや腎動脈 CT 画像での流速や剪断応力の解析を COMSOL Multiphysics software を用いてシミュレーション解析し流体力学的パラメーターを算出した。

③ 動脈硬化になりにくい患者 iPS 細胞由来血管平滑筋細胞のエピゲノム解析

iPS 細胞由来 3D 血管に灌流刺激を加えた場合には圧負荷による圧受容体を介した RNA や蛋白質、脂質の変化、またエピゲノム変化が起こることが想定される。まずは平面培養における動脈硬化になりにくい患者となりやすい患者 iPS 細胞由来血管平滑筋のエピゲノム解析を行った。ATAC-seq 解析の結果、申請者が発見した新規動脈硬化抑制因子 AADAC についても転写調節領域のクロマチンがオープンになっており、動脈硬化の発症にはエピゲノム変化が大きく関わる可能性も示唆された。

今回確立したヒト iPS 細胞由来 3D 血管の基盤を用いて今後の患者由来 3D 血管の RNA や代謝物解析のみならずエピゲノム変化についても解析を行っていく予定である。

**研究助成 2020 – 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	東北大学大学院医工学研究科 分子病態医工学分野
氏	名	豊原 敬文

<b>1. 論文発表実績</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 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。</li> <li>● 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。</li> <li>● 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<u>下線</u>を引く。</li> <li>● 国内外雑誌を問わない。</li> <li>● 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。</li> <li>● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>	
1	Ito N., Shirai T., <u>Toyohara T.</u> , Hashimoto H., Sato H., Fujii H., Ishii T., Harigae H. Coexistence of IgA nephropathy and renal artery stenosis in Takayasu arteritis: case report and literature review. <i>Rheumatol. Int.</i> 43: 391, 2023
2	Oribe S., <u>Toyohara T. (Co-first author)</u> , Mishima E., Suzuki T., Kikuchi K., Watanabe S., Morita Y., Ota H., Seiji K., Miyazaki M., Takase K., Abe T. Fibromuscular dysplasia with recurrence after “long-term” following percutaneous transcatheter renal angioplasty: two case reports with a review of 26 patients. <i>BMC Nephrol.</i> 22: 187, 2021.
3	Ho H.J., Kikuchi K., Oikawa D., Watanabe S., Kanemitsu Y., Saigusa D., Kujirai R., Ikeda-Ohtsubo W., Ichijo M., Akiyama Y., Aloki Y., Michima E., Ogata Y., Oikawa Y., Matsuhashi T., <u>Toyohara T.</u> , Suzuki C., Suzuki T., Mano N., Kagawa Y., Owada Y., Katayama T., Nakayama T., Tomioka Y., and Abe T. SGLT-1-specific inhibition ameliorates renal failure and alters the gut microbial community in mice with adenine-induced renal failure. <i>Physiological Reports</i> 9: e15092, 2021.
4	Akiyama Y., Kikuchi K., <u>Toyohara T.</u> , Mishima E., Suzuki C., Suzuki T., Nakayama M., Tomioka Y., Soga T., Abe T. CE-MS-Based Identification of Uremic Solutes Specific to Hemodialysis Patients. <i>Toxins</i> 13: 324, 2021.
5	Sato M., Harada-Shoji N., <u>Toyohara T.</u> , Soga T., Itoh M., Miyashita M., Tada H., Amari M., Anzai N., Furumoto S., Abe T., Suzuki T., Ishida T., Sasano H. L-type amino acid transporter 1 is associated with chemoresistance in breast cancer via the promotion of amino acid metabolism. <i>Sci. Rep.</i> 11: 589, 2021.

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 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。</li> <li>● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>● 国内外を問わない。</li> <li>● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2022.4	飯田怜央、 <b>豊原敬文</b> 、岩間憲之、渡邊駿、菊地晃一、鈴木健弘、宮崎真理子、齋藤昌利、阿部高明 妊娠高血圧症候群における急性憎悪および症状遷延化因子の検討第 119 回日本内科学会 指導教官賞受賞
2	2021.11	<b>豊原敬文</b> 患者由来 iPS 細胞を用いた新規動脈硬化抑制因子の発見と腎疾患への応用. 第 94 回日本生化学会大会 シンポジウム講演
3	2021.10	<b>Takafumi Toyohara</b> , Shun Watanabe, Koichi Kikuchi, Takehiro Suzuki, Chad A. Cowan, Takaaki Abe. Patient derived-iPS cells identify a novel protective factor against atherosclerosis. International Symposium on Atherosclerosis Annual Meeting 2021. <b>APSAVD Basci Oral award 受賞</b>
4	2021.10	<b>豊原敬文</b> 、渡邊駿、菊地晃一、鈴木健弘、阿部高明 患者由来 iPS 細胞を用いた新規動脈硬化抑制因子の発見 第 43 回日本高血圧学会総会 2021 日本高血圧学会総会 SHR 賞受賞
5	2021.10	上原啓誠、 <b>豊原敬文</b> 、三島英換、渡邊駿、菊地晃一、鈴木健弘、伊東伸朗、宮崎真理子、阿部高明 CaSR 刺激型自己抗体による副甲状腺機能低下症の合併が疑われた腎血管性高血圧の 1 例 第 51 回日本腎臓学会東
6	2021.6	大下冬馬、 <b>豊原敬文</b> 、渡邊駿、菊地晃一、鈴木健弘、宮崎真理子、富岡佳久、阿部高明 血中・尿中 GDF15 の糖尿病性腎症及び腎内環境予測因子としての有用性の臨床検討 第 64 回日本腎臓学会総会 2021
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		