

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670408

研究課題名(和文) iPS細胞を用いたSCVTdP疾患概念の構築と新規治療方法の開発

研究課題名(英文) Disease modeling for SCVTdP by iPS cells

研究代表者

湯浅 慎介 (Yuasa, Shinsuke)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：90398628

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：SCVTdP患者からiPS細胞を作製した。同iPS細胞とコントロールiPS細胞から心筋細胞を分化誘導、精製し、電気生理学的解析、分子生物学的解析を行った。電気生理学的解析として行った細胞外電位解析、活動電位解析、パッチクランプによる解析により、疾患特異的な表現型を同定しえた。詳細な機能解析を続け、治療方法の開発へ繋げていく。

研究成果の概要(英文)：We generated iPS cells from patients with short coupled variant TdP (SCVTdP). Cardiomyocytes were differentiated from control-iPS cells and SCVTdP-iPS cells. Then we performed the electrophysiological analysis using iPS cell-derived cardiomyocytes. We identified the specific phenotype in SCVTdP-iPS cell-derived cardiomyocytes.

研究分野：循環器内科

キーワード：iPS細胞 心筋細胞 不整脈

1. 研究開始当初の背景

Short-coupled variant of torsade de pointes (SCVTdP) は、1994年に Leenhardt らにより報告された、比較的新しい疾患概念である。器質的心臓疾患の無い若年成人が連結器の短い心室性期外収縮に続く多形性心室頻拍を呈し、突然死の高いリスクを有する。その後も症例報告は散発的に認めるが、まとまった報告はなく、患者数、有病率、発症原因等は不明である。しかし高率に心室細動から突然死を認め、予後が悪く嚴重な管理が必要であることは認識され、日本循環器病学会ガイドラインにおいて診断基準も提示されているが、疾患原因や治療方法等に関しては全く分かっていない。

2. 研究の目的

本研究においては、患者ゲノムに記録された全遺伝情報を保持している患者特異的 iPS 細胞を用いて、SCVTdP の病態解明、疾患概念確立と治療方法の開発を目的とする。

3. 研究の方法

SCVTdP 患者から iPS 細胞を作製する。同 iPS 細胞とコントロール iPS 細胞から心筋細胞を分化誘導、精製する。同心筋細胞に対して電気生理学的解析、分子生物学的解析を行い疾患に特異的な細胞表現型を同定する。電気生理学的解析として、細胞外電位解析、活動電位解析、パッチクランプによる解析を行う。またカルシウムイメージを行うことにより、カルシウム動態を明らかとする。分子生物学的解析として、免疫染色、RT-PCR 解析、網羅的遺伝子発現解析等を行う。

4. 研究成果

SCVTdP 患者から iPS 細胞を作製した。同 iPS 細胞とコントロール iPS 細胞から心筋細胞を分化誘導、精製し、電気生理学的解析、分子生物学的解析を行った。電気生理学的解析として行った細胞外電位解析、活動電位解析、パッチクランプによる解析により、疾患特異的な表現型を同定しえた。詳細な機能解析を続け、治療方法の開発へ繋げていく。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 28 件)

1. Sogo T, Morikawa K, Kurata Y, Li P, Ichinose T, **Yuasa S**, Nozaki D, Miake J, Ninomiya H, Shimizu W, Fukuda K, Yamamoto K, Shirayoshi Y, Hisatome I. Electrophysiological properties of iPS cell-derived cardiomyocytes from a patient with long QT syndrome type 1 harboring the novel mutation M437V of KCNQ1.

Regenerative Therapy. Volume 4, June 2016, Pages 9-17 査読あり

2. Kunitomi A, **Yuasa S**, Sugiyama F, Saito Y, Seki T, Kusumoto D, Kashimura S, Takei M, Tohyama S, Hashimoto H, Egashira T, Tanimoto Y, Mizuno S, Tanaka S, Okuno H, Yamazawa K, Watanabe H, Oda M, Kaneda R, Matsuzaki Y, Nagai T, Okano H, Yagami KI, Tanaka M, Fukuda K. H1foo has a pivotal role in qualifying induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports*. in press. 査読あり

3. Tohyama S, Fujita J, Hishiki T, Matsuura T, Hattori F, Ohno R, Kanazawa H, Seki T, Nakajima K, Kishino Y, Okada M, Hirano A, Kuroda T, Yasuda S, Sato Y, **Yuasa S**, Sano M, Suematsu M, Fukuda K. Glutamine Oxidation Is Indispensable for Survival of Human Pluripotent Stem Cells. *Cell Metab*. 2016 Apr 12;23(4):663-74 査読あり

4. Kanazawa H, Kawamura A, Kimura M, Akita K, Yashima F, Arai T, Kawakami T, Hayashida K, Tsuruta H, **Yuasa S**, Itabashi Y, Murata M, Maekawa Y, Fukuda K. A Novel Wire-Assisted Technique for Closing Large Atrial Septal Defects: New Concepts of Closure Mechanism. *JACC Cardiovasc Interv*. 2016 Mar 28;9(6):e59-61. 査読あり

5. Yashima F, **Yuasa S**, Maekawa Y, Kimura M, Akita K, Yanagisawa R, Tanaka M, Hayashida K, Kawakami T, Kanazawa H, Fujita J, Fukuda K. In-stent dissection causes no flow during percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol Interv*. 2016 Jan 11;9(1):102-3. 査読あり

6. Kishino Y, Seki T, **Yuasa S**, Fujita J, Fukuda K. Generation of Induced Pluripotent Stem Cells from Human Peripheral T Cells Using Sendai Virus in Feeder-free Conditions. *J Vis Exp*. 2015 Nov 11;(105). 査読あり

7. Maekawa Y, Akita K, Tsuruta H, Yashima F, Kimura M, Yamada Y, Kawakami T, Kanazawa H, Hayashida K, **Yuasa S**, Murata M, Jinzaki M, Fukuda K. "Protruding Myocardium" as a Target for Percutaneous Transluminal Septal Myocardial Ablation in a Case of Hypertrophic Obstructive Cardiomyopathy. *JACC Cardiovasc Interv*. 2015 Oct;8(12):e201-2. 査読あり

8. Akita K, Maekawa Y, Tsuruta H, Okuda S, Yanagisawa R, Kageyama T, Kawakami T, Kanazawa H, Hayashida K, **Yuasa S**, Murata M, Jinzaki M, Fukuda K. "Moving left ventricular obstruction" due to stress cardiomyopathy in a patient with hypertrophic obstructive cardiomyopathy

- treated with percutaneous transluminal septal myocardial ablation. *Int J Cardiol.* 2015 Aug 25;202:194-195. 査読あり
9. Tanaka A, **Yuasa S**, Node K, Fukuda K. Cardiovascular Disease Modeling Using Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells. *Int J Mol Sci.* 2015 Aug 12;16(8):18894-922. 査読あり
 10. Hashimoto H, **Yuasa S**, Tabata H, Seki T, Tohyama S, Hayashiji N, Hattori F, Kusumoto D, Kunitomi A, Takei M, Kashimura S, Yozu G, Shimojima M, Motoda C, Muraoka N, Nakajima K, Sakaue-Sawano A, Miyawaki A, Fukuda K. Analysis of cardiomyocyte movement in the developing murine heart. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015 Sep 4;464(4):1000-7. 査読あり
 11. Aizawa Y, Kohno T, **Yuasa S**, Fukuda K. The role of circadian rhythms in fatal arrhythmias and the potential impact of intervention for sleep-disordered breathing. *Curr Pharm Des.* 2015;21(24):3512-22. 査読あり
 12. Inohara T, Kawakami T, Kataoka M, Yamamoto M, Kimura M, Kanazawa H, **Yuasa S**, Hayashida K, Maekawa Y, Fukuda K. Lesion morphological classification by OCT to predict therapeutic efficacy after balloon pulmonary angioplasty in CTEPH. *Int J Cardiol.* 2015 Jun 19;197:23-25. 査読あり
 13. Hayashiji N, **Yuasa S**, Miyagoe-Suzuki Y, Hara M, Ito N, Hashimoto H, Kusumoto D, Seki T, Tohyama S, Kodaira M, Kunitomi A, Kashimura S, Takei M, Saito Y, Okata S, Egashira T, Endo J, Sasaoka T, Takeda SI, Fukuda K. G-CSF supports long-term muscle regeneration in mouse models of muscular dystrophy. *Nat. Commun.* 2015 Apr 13;6:6745. 査読あり
 14. Kodaira M, Hatakeyama H, **Yuasa S**, Seki T, Egashira T, Tohyama S, Kuroda Y, Tanaka A, Okata S, Hashimoto H, Kusumoto D, Kunitomi A, Takei M, Kashimura S, Suzuki T, Yozu G, Shimojima M, Motoda C, Hayashiji N, Saito Y, Goto Y, Fukuda K. Impaired respiratory function in MELAS-induced pluripotent stem cells with high heteroplasmy levels. *FEBS Open Bio.* 2015 Mar 20;5:219-25. 査読あり
 15. Arai T, Kawakami T, Kataoka M, **Yuasa S**, Maekawa Y, Fukuda K. Fractured mobile flap in pulmonary artery: One of possible mechanisms for residual or recurrent pulmonary hypertension after pulmonary endarterectomy. *Int J Cardiol.* 2015 Feb 24;185:129-130. 査読あり
 16. Maekawa Y, Jinzaki M, Tsuruta H, Akita K, Yamada Y, Kawakami T, Hayashida K, **Yuasa S**, Murata M, Suzuki M, Kuribayashi S, **Yuasa S**, Murata M, Fukuda K. Improved renal function in a patient with hypertrophic obstructive cardiomyopathy after multidetector computed tomography-guided percutaneous transluminal septal myocardial ablation. *Int J Cardiol.* 2014 Dec 24;181C:349-350. 査読あり
 17. Egashira T, **Yuasa S**, Tohyama S, Kuroda Y, Suzuki T, Seki T, Fukuda K. Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cell Models: Characterization of iPS Cell-Derived Cardiomyocytes. *Methods Mol Biol.* 2014 Dec 18. 査読あり
 18. Iejima D, Itabashi T, Kawamura Y, Noda T, **Yuasa S**, Fukuda K, Oka C, Iwata T. HTRA1 (high temperature requirement A serine peptidase 1) gene is transcriptionally regulated by insertion/deletion nucleotides located at the 3' end of the ARMS2 (age-related maculopathy susceptibility 2) gene in patients with age-related macular degeneration. *J Biol Chem.* 2015 Jan 30;290(5):2784-97. 査読あり
 19. Shimamoto A, Kagawa H, Zensho K, Sera Y, Kazuki Y, Osaki M, Oshimura M, Ishigaki Y, Hamasaki K, Kodama Y, **Yuasa S**, Fukuda K, Hirashima K, Seimiya H, Koyama H, Shimizu T, Takemoto M, Yokote K, Goto M, Tahara H. Reprogramming Suppresses Premature Senescence Phenotypes of Werner Syndrome Cells and Maintains Chromosomal Stability over Long-Term Culture. *PLoS One.* 2014 Nov 12;9(11):e112900. 査読あり
 20. Tanaka A, **Yuasa S**, Mearini G, Egashira T, Seki T, Kodaira M, Kusumoto D, Kuroda Y, Okata S, Suzuki T, Inohara T, Arimura T, Makino S, Kimura K, Kimura A, Furukawa T, Carrier L, Node K, Fukuda K. Endothelin-1 induces myofibrillar disarray and contractile vector variability in hypertrophic cardiomyopathy-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *J Am Heart Assoc.* 2014 Nov 11;3(6). 査読あり
 21. Hemmi N, Tohyama S, Nakajima K, Kanazawa H, Suzuki T, Hattori F, Seki T, Kishino Y, Hirano A, Okada M, Tabei R, Ohno R, Fujita C, Haruna T, **Yuasa S**, Sano M, Fujita J, Fukuda K. A massive suspension culture system with metabolic purification for human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Stem Cells Transl Med.* 2014 Dec;3(12):1473-83. 査読あり
 22. Maekawa Y, Jinzaki M, Anzai A, Tsuruta H, Matsumura K, Yamada Y, Tabei R, Kawakami T, Hayashida K, **Yuasa S**, Murata M, Suzuki M, Kuribayashi S,

- Fukuda K. Successful second attempt multidetector computed tomography-guided percutaneous transluminal septal myocardial ablation for an octogenarian with hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2014 Oct 20;176(3):e131-2. 査読あり
23. Anzai A, **Yuasa S**, Kanazawa H, Kodaira M, Arai T, Kawakami T, Hayashida K, Maekawa Y, Kawamura A, Fukuda K. 'Phantom Vessel' Running Parallel to the Culprit Artery in a Case of Acute Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol Interv.* 2014 Jun;7(6):e51-2. 査読あり
24. Kishino Y, Seki T, Fujita J, **Yuasa S**, Tohyama S, Kunitomi A, Tabei R, Nakajima K, Okada M, Hirano A, Kanazawa H, Fukuda K. Derivation of transgene-free human induced pluripotent stem cells from human peripheral T cells in defined culture conditions. *PLoS One.* 2014 May 13;9(5):e97397. 査読あり
25. Sakurai M, Kunimoto H, Watanabe N, Fukuchi Y, **Yuasa S**, Yamazaki S, Nishimura T, Sadahira K, Fukuda K, Okano H, Nakauchi H, Morita Y, Matsumura I, Kudo K, Ito E, Ebihara Y, Tsuji K, Harada Y, Harada H, Okamoto S, Nakajima H. Impaired hematopoietic differentiation of RUNX1-mutated induced pluripotent stem cells derived from FPD/AML patients. *Leukemia.* 2014 Dec;28(12):2344-54. 査読あり
26. Hashimoto H, **Yuasa S**, Tabata H, Tohyama S, Hayashiji N, Hattori F, Muraoka N, Egashira T, Okata S, Yae K, Seki T, Nishiyama T, Nakajima K, **Sakaue-Sawano A**, Miyawaki A, Fukuda K. Time-lapse imaging of cell cycle dynamics during development in living cardiomyocyte *J Mol Cell Cardiol.* 2014 Jul;72:241-9. 査読あり
27. Egashira T, **Yuasa S**, Kimura M, Sawano M, Anzai A, Hayashida K, Kawamura A, Kimura T, Nishiyama N, Aizawa Y, Takatsuki S, Tsuruta H, Murata M, Yamada Y, Kohno T, Maekawa Y, Sano M, Kosaki K, Fukuda K. Coexistence of two distinct fascinating cardiovascular disorders: Heterotaxy syndrome with left ventricular non-compaction and vasospastic angina. *Int J Cardiol.* 2014 Jun 15;174(2):e54-6. 査読あり
28. Maekawa Y, Jinzaki M, Anzai A, Matsumura K, Tsuruta H, Kawakami T, Hayashida K, **Yuasa S**, Murata M, Suzuki M, Kuribayashi S, Fukuda K. Utility of the reverse wire technique in multidetector computed tomography-guided percutaneous transluminal septal myocardial ablation. *Int J Cardiol.* 2014 May 15;173(3):e33-4. 査

読あり

[学会発表] (計 12 件)

1. **Shinsuke Yuasa**: Arrhythmogenic disease modeling using iPS cells. 第 80 回日本循環器学会学術集会 シンポジウム 16 疾患 iPS 細胞から創薬へ 仙台国際センター(宮城県仙台市) 2016年3月19日(土)
2. **湯浅慎介**: ET-1 Has a Pivotal Role in the Pathogenesis of Hypertrophic Cardiomyopathy. 第 80 回日本循環器学会学術集会 会長特別企画 6 循環器疾患における新規治療標的 仙台国際センター(宮城県仙台市) 2016年3月19日(土)
3. **湯浅慎介**: 肥大型心筋症特異的 iPS 細胞を用いた病態解明と臨床応用への展望. 第 15 回 再生医療学会. 再生医療学会. ランチョン. 大阪国際会議場(大阪府大阪市) 2016年3月17
4. **湯浅慎介**: 活性化筋衛星細胞における G-CSF 受容体を介する JNK 活性化による長期骨格筋再生. 第 38 回 日本分子生物学会 ワークショップ. 神戸ポートピアホテル(兵庫県神戸市) 2015年12月04日
5. **湯浅慎介**: iPS 細胞を用いた疾患モデルの構築とその応用. 第 19 回日本心不全学会学術集会. 教育セッション. グランフロント大阪(大阪府大阪市) 2015年10月24日
6. **湯浅慎介**: G-CSF による筋ジストロフィーへの長期再生療法の開発 20150808 第 1 回 日本筋学会学術集会. 国立精神神経センター(東京都小平市). 2015年8月8日
7. **Shinsuke Yuasa**: Arrhythmogenic disease modeling by iPS cells. 第 30 回 日本不整脈学会 シンポジウム 国立京都国際会館(京都府京都市) 2015年7月31日
8. **湯浅慎介**: 肥大型心筋症 iPS 細胞由来心筋細胞においてエンドセリン 1 は筋原線維配列の乱れを誘発する. 第一回 J-ISCP 学術集会 医学・薬学ジョイントシンポジウム ハイアットリージェンシー京都(京都府京都市) 21/June/2015
9. **Shinsuke Yuasa**: Disease Modeling of Brugada Syndrome. 第 79 回日本循環器学会学術集会. Symposium. 大阪国際会議場(大阪府大阪市) April 25. 2015.
10. **Yuasa S**: ET-1 Induces Myofibrillar Disarray and Contractile Vector Variability in Hypertrophic Cardiomyopathy-iPS Cell-derived Cardiomyocytes. Medical Research Institute 40 th Anniversary. 13th Surugadai International Symposium & Joint Usage/Research Program of Medical Research Institute International Symposium. 東京医科歯科大学(東京都文京区)

28/Nov/2014.

11. Yuasa S: Role of iPS cells in understanding mechanisms of LQTS. 7th Asia Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session. 30/October/2014. New Delhi. (India.)
12. Yuasa S: G-CSF has a pivotal role in long-term skeletal muscle regeneration. The 18th International Vascular Biology Meeting. Symposium. 17, みやこめっせ (京都府京都市) , 17/April/2014.

[図書] (計 1 件)

1. Shinsuke Yuasa. Springer. Cardiac Arrhythmia Modeling Using iPS Cells. Human iPS cells in Disease Modeling. page 27-44. 2016.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

湯浅 慎介 (Shinsuke Yuasa)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：90398628