

一般口演 | 基礎研究

■ 2025年7月12日(土) 8:30 ~ 9:30 血 第7会場 (文化会館棟 B1F 第2リハーサル室)

一般口演32 (III-OR32)

基礎研究

座長：横山 詩子 (東京医科大学細胞生理学分野)

座長：八代 健太 (京都府立医科大学 大学院医学研究科)

[III-OR32-01]

Rit1変異を有するNoonan症候群モデルマウスは、胎児期から心筋肥厚を呈する

○鈴木 大^{1,2} (1.東北大学 大学院医学系研究科 公衆衛生学専攻 遺伝医療学分野, 2.東北大学病院 小児科)

[III-OR32-02]

福山型筋ジストロフィー患者由来ヒトiPS細胞分化心筋を用いた心筋症発症メカニズムの解明

○福村 史哲, 馬場 志郎, 久米 英太郎, 赤木 健太郎, 平田 拓也, 吉田 健司, 滝田 順子 (京都大学 大学院 医学研究科 発達小児科学講座)

[III-OR32-03]

全エクソン解析再評価による先天性心疾患の遺伝学的再構築

○小川 陽介^{1,2,3}, 河島 裕樹¹, 土居 秀基¹, 西木 拓己¹, 小澤 由衣¹, 水野 雄太¹, 榊 真一郎¹, 白神 一博¹, 益田 瞳¹, 松井 彦郎¹, 犬塚 亮¹ (1.東京大学医学部附属病院 小児科, 2.東京大学大学院医学系研究科 小児科学, 3.東京大学大学院医学系研究科 遺伝情報学)

[III-OR32-04]

低酸素飼育肺動脈絞扼ラットは心筋毛細血管密度を上昇させることによりミトコンドリア傷害を軽減させ心機能を維持した

○伊藤 怜司, 糸久 美紀, 浦島 崇 (東京慈恵会医科大学 小児科学講座)

[III-OR32-05]

小児僧帽弁における三次元組織構造の経時的変化の検討

○渡邊 一輝¹, 鳥羽 修平^{2,3}, 山崎 誉斗^{2,3}, 中山 祐樹², Sanders Stephen P.^{3,4}, Mayer, Jr. John E.^{5,6}, Carreon Chrystalle Katte^{3,7} (1.三重大学 医学部 医学科, 2.三重大学 大学院 医学系研究科 胸部心臓血管外科, 3.The Cardiac Registry, Departments of Cardiology, Pathology, and Cardiovascular Surgery, Boston Children's Hospital, 4.Department of Pediatrics, Harvard Medical School, 5.Department of Cardiovascular Surgery, Boston Children's Hospital, 6.Department of Surgery, Harvard Medical School, 7.Department of Pathology, Harvard Medical School)

[III-OR32-06]

脱細胞化生体組織を用いた肺動脈形成時の補填材料に関する検討

○鍋島 惇也¹, 川畑 拓也¹, 橋本 良秀², 岸田 晶夫², 藤田 知之¹ (1.東京科学大学 医歯学総合研究科 心臓血管外科, 2.東京科学大学 総合研究院 生体材料工学研究所 物質医工学分野)

一般口演 | 基礎研究

2025年7月12日(土) 8:30 ~ 9:30 第7会場 (文化会館棟 B1F 第2リハーサル室)

一般口演32 (III-OR32)

基礎研究

座長：横山 詩子 (東京医科大学細胞生理学分野)

座長：八代 健太 (京都府立医科大学 大学院医学研究科)

[III-OR32-01] *Rit1*変異を有するNoonan症候群モデルマウスは、胎児期から心筋肥厚を呈する○鈴木 大^{1,2} (1.東北大学 大学院医学系研究科 公衆衛生学専攻 遺伝医療学分野, 2.東北大学病院 小児科)

キーワード：Noonan症候群、胎児期、心筋肥厚

【背景】 Noonan症候群は、特異的顔貌、精神発達遅滞、先天性心疾患、リンパ管形成異常などを特徴とする、常染色体顕性遺伝または潜性遺伝の先天性奇形症候群である。細胞内シグナル伝達経路のRAS/mitogen-activated protein kinase (RAS/MAPK) 経路に関連するさまざまな遺伝子の変異で発症する。2013年、当研究室で*Ras-like without CAAX1 (RIT1)* の生殖細胞系列の変異によりNoonan症候群が発症することを報告した。また、*RIT1*変異を有するNoonan症候群患者では心疾患の発症が多いこと、さらに*Rit1*^{A57G/+}変異マウスを作成し、生後12週以降での心重量/体重比の増加と、心臓の線維化の亢進を報告した。しかしながら、*Rit1*^{A57G/+}変異マウスの胎児期から心疾患を発症しているかは不明である。【目的】 Noonan症候群モデルである*Rit1*^{A57G/+}変異マウスの胎児期の心臓形態を解析することで、*Rit1*^{A57G/+}変異によるNoonan症候群発症機序を解明することを目的とした。【方法】 当研究室で作成した*Rit1*^{A57G/+}変異雄性マウスと野生型雌性マウスを交配させ、得られた胎児の心臓表現型を解析した。【結果】 胎生14.5日の胎児の心臓では、野生型と比して壁肥厚は認めず、心筋における増殖能亢進も認めなかった。しかし胎生16.5日の胎児では、*Rit1*^{A57G/+}変異マウスで左室と心室中隔の肥厚を認め、さらに心筋の増殖能は亢進していた。また肺動脈弁は肥厚しており、肺動脈弁狭窄症の発症を示唆した。肥厚した心筋は細胞数の増加が原因と考えられた。【結論】 *Rit1*^{A57G/+}変異マウスでは胎生16.5日の時点で心筋肥厚を呈すること、また心筋細胞の増殖能が亢進することが明らかとなった。(会員外共同演者、阿部太紀、新堀哲也、菊池敦生、青木洋子)

一般口演 | 基礎研究

2025年7月12日(土) 8:30 ~ 9:30 第7会場 (文化会館棟 B1F 第2リハーサル室)

一般口演32 (III-OR32)

基礎研究

座長：横山 詩子 (東京医科大学細胞生理学分野)

座長：八代 健太 (京都府立医科大学 大学院医学研究科)

[III-OR32-02] 福山型筋ジストロフィー患者由来ヒトiPS細胞分化心筋を用いた心筋症発症メカニズムの解明

○福村 史哲, 馬場 志郎, 久米 英太郎, 赤木 健太郎, 平田 拓也, 吉田 健司, 滝田 順子 (京都大学 大学院医学研究科 発達小児科学講座)

キーワード：福山型筋ジストロフィー、心筋症、iPS細胞

【背景】福山型筋ジストロフィー(FCMD)は進行性の神経筋疾患であり、FKTN遺伝子の変異により発症する。FCMDの生命予後を規定するのは呼吸筋力低下による重度の呼吸不全と心筋症である。FKTN遺伝子のmRNA産物によって転写されるFukutinタンパクは細胞膜タンパクである α -ジストログリカンの糖鎖を伸長し、その異常によって細胞脆弱性が生じると考えられるが、心筋症との関わりは不明である。【目的】ヒトiPS細胞(iPS)を用いたin vitroの実験系により、膜タンパク上の糖鎖形成不全と心筋症発症メカニズムの関連を解明する。【方法】FCMD患者、健常者各々からiPSを樹立した(F-iPS、C-iPS)。また、F-iPSをCRISPR-Cas9を用いて遺伝子修復したコントロール株(C-F-iPS)も作製した。まず、 α ジストログリカンに連なる糖鎖の伸長について、iPS由来分化心筋細胞間で糖鎖抗体の蛍光輝度を比較して検証した。さらにFCMD心筋症の表現型を確認するため、単細胞に分離した状態での細胞サイズ、拍動数を測定し、Multi-electrode array systemを用いて擬似的なQT時間であるField potential duration (FPD)を算出した。【結果】F-iPS由来心筋(F-CM)は、C-iPS由来心筋(C-CM)、C-F-iPS由来心筋(C-F-CM)と比較して糖鎖の伸長は有意に低下していた(C-CM vs. F-CM: $p=0.0032$, F-CM vs. C-F-CM: $p=0.0013$)。細胞サイズはC-CMとF-CMに有意差なく($p=0.61$)、F-CMとC-F-CMではC-F-CMが有意に大きかった($p=0.030$)。拍動数はC-CM 62 ± 22 bpm、F-CM 50 ± 23 bpm、C-F-CM 60 ± 30 bpmであり、F-CMで少なかったが有意差はなかった。FPDをFridericia法により補正した値はC-CMで 241 ± 29 ms、C-F-CMで 236 ± 41 msに対し、F-CMでは 283 ± 46 msとより長かったが、有意差は認めなかった(C-CM vs. F-CM: $p=0.13$, F-CM vs. C-F-CM: $p=0.11$)。【考察と結論】現在のところ統計的な有意差はないが、本実験系でFCMD患者の心筋脆弱性が再現される可能性が示唆された。

一般口演 | 基礎研究

2025年7月12日(土) 8:30 ~ 9:30 第7会場 (文化会館棟 B1F 第2リハーサル室)

一般口演32 (III-OR32)

基礎研究

座長：横山 詩子 (東京医科大学細胞生理学分野)

座長：八代 健太 (京都府立医科大学 大学院医学研究科)

[III-OR32-03] 全エクソン解析再評価による先天性心疾患の遺伝学的再構築

○小川 陽介^{1,2,3}, 河島 裕樹¹, 土居 秀基¹, 西木 拓己¹, 小澤 由衣¹, 水野 雄太¹, 榊 真一郎¹, 白神 一博¹, 益田 瞳¹, 松井 彦郎¹, 犬塚 亮¹ (1.東京大学医学部附属病院 小児科, 2.東京大学大学院医学系研究科 小児科学, 3.東京大学大学院医学系研究科 遺伝情報学)

キーワード：先天性心疾患、全エクソン解析、バイオインフォマティクス

【背景】先天性心疾患 (CHD) は遺伝的要因が少なからず関与するにも関わらず、全エクソン解析 (WES) による遺伝学的診断率は低い。しかし、近年の心血管発生研究の進展に伴い、同じWESデータでもバリエーションの病原性評価は経時的に変化しているため再評価が必要である。【方法】2012年から2018年に採取したCHD症例のWES結果を新規パイプラインで再解析した。CHDに関連する既知遺伝子を対象に、(1)Pathogenic/Likely pathogenic (P/LP) の再評価、(2)バイオインフォマティクスツール (BIT) による構造異常 (Manta/GATK-gCNV) やスプライス異常 (SpliceAI) の予測、(3) Variant of unknown significance (VUS) 保有率の群間比較および臨床像の再検討を行った。【結果】対象は102症例 (円錐動脈幹異常(CTD) 37例、大血管転位20例、内臓錯位18例、その他27例)。P/LP診断率は検体採取当時5%に対し、今回10% (線毛遺伝子3例、RAS/MAPK 3例、その他4例) に増加した。BITによる評価ではTMEM260部分欠失 (総動脈幹症) やELN (大動脈弁上狭窄症)、NODAL (完全大血管転位症) のスプライス異常が検出された。また、NOTCH1などのCTD関連14遺伝子のVUSを対象とした1症例あたりのバリエーション保有率は、CTD群 0.30、非CTD-CHD群 0.16、健常対象群 0.03と有意にCTD群で高かった (p=0.02)。このうちJAG1のVUSを持つ一例では臨床像の再検討によりAlagille症候群の臨床診断に至った。【考察】WES再評価による遺伝学的診断率は向上し、その要因として近年の(1)新規原因遺伝子の同定 (TMEM260, MYRF) や(2)解析技術の進歩が寄与していた。また1症例では病原性が判断できないバリエーションでも集団レベルではCHDに集中しており、エクソンレベルでわかるCHDの遺伝学的基盤の裾野はさらに広いことが示唆される。このような探索はCHDの病因解明に寄与するのみならず、基礎疾患の同定による臨床的なプラクティスへの還元という点でも価値がある。

一般口演 | 基礎研究

2025年7月12日(土) 8:30 ~ 9:30 第7会場 (文化会館棟 B1F 第2リハーサル室)

一般口演32 (III-OR32)

基礎研究

座長：横山 詩子 (東京医科大学細胞生理学分野)

座長：八代 健太 (京都府立医科大学 大学院医学研究科)

[III-OR32-04] 低酸素飼育肺動脈絞扼ラットは心筋毛細血管密度を上昇させることによりミトコンドリア傷害を軽減させ心機能を維持した

○伊藤 怜司, 糸久 美紀, 浦島 崇 (東京慈恵会医科大学 小児科学講座)

キーワード：右室不全、低酸素血症、血管新生

【背景】近年チアノーゼ性先天性心疾患(CCHD)の治療成績は向上する一方で、狭窄病変やチアノーゼの残存は心不全を遷延させ生命予後に影響を与える。主心室の多くは右室であるが、CCHDにおける右室リモデリングは未だ不明である。我々は低酸素飼育肺動脈絞扼ラットをCCHDモデルとして組織生理学的評価を行い、体血圧60%以上の右室圧上昇、心室拡張障害を同定、心筋線維化・ミトコンドリア(mt)形態異常を確認し、左室で更に悪化すると報告した。今回、本モデルの分子生物学的解析を追加したので報告する。

【目的】低酸素飼育肺動脈絞扼ラットの心機能に影響を与える因子を評価する。

【方法】SDラットを低酸素環境(13%)で飼育し4週齢時に肺動脈絞扼術(PAB)を施行する。低酸素飼育を継続し3週後に組織を摘出しミトコンドリア(mt)DNAや血管新生因子をRT-PCR法を用いて測定した。結果は大気飼育群と群間比較し解析を行なった。

【結果】対象はPABを施行した低酸素群(PBH), 大気群(PBR), 低酸素対照群(CH), 大気対照群(CR)を各群6例抽出し解析した。mtDNAは各負荷によりRVで増幅しLVでは減衰した(RV: PBH 0.85 ± 0.35 , CR 0.48 ± 0.21 ($p < 0.05$) LV: PBH 0.40 ± 0.18 , CR 1.04 ± 0.42 ($p < 0.05$))。血管新生因子(VEGF, Angiopoietin1)は両心室共に増幅し上流転写因子であるHIF1 α も同様に増幅した。血管内皮細胞活性を反映するeNOSはLVと比較してRVで増幅(PBH 1.33 ± 0.59 , CR 1.01 ± 0.45 ($p < 0.01$))した。心筋毛細血管密度はmtDNAと同様の傾向を示した (RV: PBH 20.4 ± 1.0 , CR 8.8 ± 0.7 ($p < 0.01$) LV: PBH 10.3 ± 0.4 , CR 8.7 ± 0.5 ($p = 0.46$))。

【結論】分子生物学的手法を用いることでmtの組織学的変化を裏付けることが出来た。心室間に認められた差異は負荷に対する冠循環の血管新生順応が影響したと示唆され、心筋エネルギー代謝の観点から追加検討することでCCHDにおける心室リモデリング機序が明らかになる可能性がある。

一般口演 | 基礎研究

2025年7月12日(土) 8:30 ~ 9:30 第7会場 (文化会館棟 B1F 第2リハーサル室)

一般口演32 (III-OR32)

基礎研究

座長：横山 詩子 (東京医科大学細胞生理学分野)

座長：八代 健太 (京都府立医科大学 大学院医学研究科)

[III-OR32-05] 小児僧帽弁における三次元組織構造の経時的変化の検討

○渡邊 一輝¹, 鳥羽 修平^{2,3}, 山崎 誉斗^{2,3}, 中山 祐樹², Sanders Stephen P.^{3,4}, Mayer, Jr. John E.^{5,6}, Carreon Chrystalle Katte^{3,7} (1.三重大学 医学部 医学科, 2.三重大学 大学院 医学系研究科 胸部心臓血管外科, 3.The Cardiac Registry, Departments of Cardiology, Pathology, and Cardiovascular Surgery, Boston Children's Hospital, 4.Department of Pediatrics, Harvard Medical School, 5.Department of Cardiovascular Surgery, Boston Children's Hospital, 6.Department of Surgery, Harvard Medical School, 7.Department of Pathology, Harvard Medical School)

キーワード：小児僧帽弁、線維配向、三次元解析

【背景】年齢に応じて変化する僧帽弁の組織構造の理解は、小児における弁形成手術に有用と考えられる。僧帽弁の発生では、生後も血流や心拍動による機械的刺激によりextra cellular matrixのリモデリングが起り、機械的強度が増すことがマウスにおいて知られているが、ヒトを対象とした生後の僧帽弁の組織構造、特に線維配向の変化に関する報告はない。

【目的】ヒト僧帽弁の生後の組織構造変化を三次元画像解析により明らかにすること。

【方法】ボストン小児病院The Cardiac Registryに保管されている死亡時年齢8歳以下のホルマリン浸漬心標本のうち、心疾患がなく僧帽弁前尖の構造が保たれているものを対象とした。心標本をmicro computed tomography(X-Tek HMHS225, Nikon Metrology, Inc.)で撮影し、僧帽弁前尖の高解像度三次元データを取得し、三次元画像解析ソフトウェアAmira 3D Pro (Thermo-Fisher Inc.)を用いて弁尖の線維配向の新規解析手法を開発した上で、小児の僧帽弁前尖の年齢に応じた形態学的差異を検討した。

【結果】対象は31例、月齢中央値は8か月(範囲, 日齢2-8歳)、三次元データの解像度は中央値17.4 μm であった。年齢と、弁尖の面積(100, 68.3-132 mm^2 (中央値, 四分位範囲; 以下同様)、厚さ(0.68, 0.59-0.82 mm)、線維数(1297, 741-2074本)との間に正の相関(それぞれ $r=0.88, 0.80, 0.86$)を、線維配向の整列度(0.58, 0.55-0.63)との間に負の相関($r=-0.50$)を認めた。線維配向は概ね腱索の付着位置・方向に一致していた。いずれの結果も二次元画像を用いた既報と矛盾しないものであった。

【結論】僧房弁前尖は年齢に応じて成長し、線維配向は概ね腱索の付着位置・方向に整列した。

一般口演 | 基礎研究

2025年7月12日(土) 8:30 ~ 9:30 第7会場 (文化会館棟 B1F 第2リハーサル室)

一般口演32 (III-OR32)

基礎研究

座長：横山 詩子 (東京医科大学細胞生理学分野)

座長：八代 健太 (京都府立医科大学 大学院医学研究科)

[III-OR32-06] 脱細胞化生体組織を用いた肺動脈形成時の補填材料に関する検討

○鍋島 惇也¹, 川畑 拓也¹, 橋本 良秀², 岸田 晶夫², 藤田 知之¹ (1.東京科学大学 医歯学総合研究科 心臓血管外科, 2.東京科学大学 総合研究院 生体材料工学研究所 物質医工学分野)

キーワード：脱細胞、肺動脈形成、動物実験

＜緒言＞先天性心疾患に対する段階的手術における肺動脈形成の素材として自己心膜が広く使用されているが、再手術時においてはすでに使用あるいは高度の癒着などが原因で必要量が確保できないことがある。その場合ウシ心のう膜やゴアテックスが使用されるが、自己心膜との物性の相違や石灰化、成長性の観点から有用な素材は未だない。我々はこれまで、高静水圧処理法により作製した脱細胞化生体組織が、生体組織に類似した力学特性、低免疫原性、優れた生体適合性、組織再構築能を有することを明らかにしてきた。肺動脈拡大形成においても脱細胞化生体組織が有用であると期待される。そこで、肺動脈拡大形成における脱細胞化生体組織の有用性を検証するためにブタ脱細胞化生体組織をウサギ肺動脈に異種移植する動物実験を計画した。＜目的＞ウサギ肺動脈におけるブタ脱細胞化心膜移植後の組織適合性及び再構築能を検証する。＜方法＞食用ブタ心膜を高静水圧処理法（10000気圧、10分間）により処理し脱細胞化ブタ心膜を作製した。日本白色家兎（20週齢、平均体重3.45kg）を正中開胸し、主肺動脈を部分遮断後、石灰して同部位に脱細胞化ブタ心膜を縫合移植した。閉胸し1か月（N=3）、6か月（N=6）の観察期間ののち移植組織を摘出し、肉眼的および組織学的検討を行った。＜結果＞すべての個体で肉眼的に内腔面は血管内皮に覆われており、血栓形成や明らかな瘤状変化は認めなかった。HE染色では、1か月群で一部類上皮細胞肉芽腫を伴いリンパ球性炎症を認めたが、6か月群では炎症反応は認めなかった。EVG染色では1か月群で弾性線維層がまばらであったが、6か月群では肺動脈中膜様の弾性線維の増生と一部中膜平滑筋細胞の再生が見られた。＜考察＞ウサギ肺動脈への異種異所性脱細胞化組織移植では経時的な炎症反応の鎮静化と組織再構築傾向を認めており、移植組織としての有用性が示唆された。