

日本医療研究開発機構 再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム
(疾患特異的 iPS 細胞の利活用促進・難病研究加速プログラム)
事後評価報告書



I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 分子機能による層別化を目的とした心筋症疾患 iPS 細胞ライブラリーの構築
(英語) Development of Induced Pluripotent Stem Cell Library from Patients with
Cardiomyopathy for Molecular Function-Based Disease Stratification

研究開発実施期間: 令和4年6月7日～令和7年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 坂田 泰史
(英語) Yasushi Sakata

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 国立大学法人大阪大学 大学院医学系研究科・教授
(英語) Professor, Graduate School of Medicine, The University of Osaka

II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

和文:

心筋症は、その形態により「拡張型」、「肥大型」、「拘束型」、「不整脈原性」と分類される一方、ゲノム解析により同定された遺伝子群と既存の分類は必ずしも1対1で結びつかず、その予後も様々であり、心筋症の統一的な定義・分類診断が困難である一因となっている。このため、重症化した心筋症において、病態に大きく寄与する遺伝子バリエントが同定された場合、分子機能による層別化を行い、分子機能に根差した病態解明、治療法開発が必要である。本研究開発では、多様な疾患である心筋症のなかから、遺伝的寄与度が高く早期に重症化した症例群を抽出し、症例数・付随情報が充実した難治性心筋症疾患 iPS 細胞ライブラリーを構築することを目的とし、下記3つの研究開発を実施した。

1. ゲノム情報、臨床情報に基づいた分子機能分類すべき心筋症の定義の確立と症例リクルート

全国医療機関から紹介された症例を対象に症例リクルートを実施し、本事業所定のインフォームドコンセント書式に則り同意を取得した。本事業を開始した2022年6月から合計で20症例から同意を取得し、うち12例から iPS 細胞を樹立した(本事業全体では合計20例から iPS 細胞を樹立)。本事業で寄託した iPS 細胞に付随する臨床情報を理研 BRC へ寄託するとともに、MYH7 バリエント(*Intern Med.* 2023 Mar 22. doi: 10.2169/internalmedicine.1497-22)、DSG2 バリエント(*Hum Genome Var.* 2024. 11(1): p. 47. doi: 10.1038/s41439-024-00304-w)による心筋症の詳細な臨床経過を論文報告した。症例リクルートを更に推進するために、令和4年度に69症例、令和6年度に30症例の全ゲノム解析を実施し、心筋症原因バリエント

として 20 バリエントを同定した(既知 13 バリエント、新規 7 バリエント)。72 症例分のゲノムデータを NBDC に寄託済みであり、追加支援で実施した全ゲノム解析データの寄託を完了する予定である。

2. 細胞内分子機能により分類された難治性心筋症疾患 iPS 細胞ライブラリーの構築

令和 4 年度には 4 症例 12 株を樹立、令和 5 年度には 8 症例 24 株を樹立、令和 6 年度には 7 症例 20 株を樹立した。更に、令和 5 年度には、健常者より健常コントロール iPS 細胞を樹立した。ゲノム編集を行い、令和 5 年度には 2 症例 4 株、令和 6 年度には 2 症例 5 株のアイソジェニック株を作成した。以上、令和 4 年度から令和 6 年度の研究期間において、当初研究計画に則り、心筋症疾患 iPS 細胞について 19 症例 56 株、健常コントロール iPS 細胞 1 株、アイソジェニック iPS 細胞 4 症例 9 株、合計 66 株について、規定された品質項目確認(核型解析、未分化マーカー、ベクター残存、マイコプラズマ評価、心筋細胞分化)を実施し、理研 BRC へ寄託するとともに、疾患 iPS 細胞については付随する臨床情報を寄託した。

3. 分化心筋を用いた機能解析(疾患研究)

iPS 細胞の利活用推進を目的に、以下の疾患研究を実施した。*DMD* バリエント疾患 iPS 細胞(令和 4 年度寄託)について、ゲノム解析、心筋組織病理標本を用いた解析、アイソジェニック iPS 由来分化心筋細胞を用いた機能解析を行い、複合した遺伝子バリエントが心臓組織の収縮力に加えスティフネスを低下させ、重症化に関与していることを見出し、論文報告した(*J Am Coll Cardiol Basic Trans Science*. Feb 08, 2023. Epublshed DOI: 10.1016/j.jacbts.2022.11.007)。*TNNI3* バリエント疾患 iPS 細胞(令和 5 年度寄託)について、分化心筋細胞から作成した心筋組織を用いて、*TNNI3* の病的バリエントが心筋の拡張機能障害を惹起することを証明し論文報告した(*Dev. Growth Differ.*, 2024. 66(2): p. 119-132. doi: 10.1111/dgd.12909. Epub 2024 Jan 9)。*PLN* バリエント疾患 iPS 細胞(令和 4 年度寄託)、*DMPK* バリエント疾患 iPS 細胞(令和 5 年度、令和 6 年度寄託)、*LAMP2* バリエント疾患 iPS 細胞(令和 5 年度、令和 6 年度寄託)、他本事業において同定、された遺伝子バリエントについて、アイソジェニック iPS 細胞の作製とともに、iPS 細胞由来分化心筋細胞を用いた機能解析を実施した

心筋症におけるゲノム解析の進展とともに、従来の形態的分類に加え、ゲノムデータを活用した分子基盤に基づいた分類、治療の必要性が、急速に認識されるようになっている。治療分野においては、特定の遺伝性心筋症に対するアデノ随伴ウイルスベクターを用いた遺伝子治療がヒト臨床へ応用され始めている。心筋症個別化医療の必要性が急速に高まっている状況において、個々の心筋症症例のゲノム情報を保持し、分子病態を再現するヒト疾患モデル、心筋症疾患 iPS 細胞ライブラリーは重要な研究ツールになると考えられる。

英文:

Cardiomyopathies are classified as dilated, hypertrophic, restrictive, or arrhythmogenic cardiomyopathies according to their morphologies. However, the identified genetic variants are not necessarily one-to-one linked to their phenotypes, and these complexities hamper unified classification and diagnosis. To address these issues, disease stratification based on molecular mechanisms is required, especially focusing on the cases with severe advanced heart failure. This study aimed to develop a disease-specific iPSC library from genetic cardiomyopathies and comprised the following three study projects.

1. Recruitment of patients with cardiomyopathy based on genetic analysis and clinical information.

We recruited cardiomyopathy cases from the hospitals throughout Japan using the specified informed consent format. Informed consent was obtained from 20 patients, and iPSCs were established from 12 patients (a total of 20 iPSCs were generated across the project). We deposited the iPSCs with clinical information and published the detailed clinical courses of *MYH7*- (*Intern Med*. 2023 Mar 22. doi: 10.2169/internalmedicine.1497-22) and *DSG2*-related cardiomyopathies (*Hum*

Genome Var, 2024. 11(1): p. 47. doi: 10.1038/s41439-024-00304-w). Whole-genome sequencing was performed for 69 cases in 2022 and 30 in 2024, identifying 20 disease-causing variants (13 known, 7 novel). Genomic data for 72 cases have been deposited to NBDC.

2. Establishment of iPSC cell library from patients with cardiomyopathy for molecular function-based disease stratification.

We generated iPSC lines from 4 cases (12 clones) in 2022, 8 cases (24 clones) in 2023, and 7 cases (20 clones) in 2024. Additionally, a healthy control iPSC line was generated in 2023. Isogenic lines were produced via genome editing from 4 cases (9 clones). From 2022 to 2024, we established 66 iPSC lines (56 from 19 cardiomyopathy cases, 1 healthy control, and 9 isogenic lines), and deposited these quality-checked iPSCs to RIKEN BRC with the associated clinical data.

3. Functional analysis using differentiated cardiomyocytes.

For *DMD*-variant iPSCs (2022), we performed genetic, histopathological, and functional analyses using isogenic cardiomyocytes, demonstrated impaired contractility and stiffness due to combined genetic variants (*J Am Coll Cardiol Basic Trans Science*. Feb 08, 2023. Epublished DOI: 10.1016/j.jacbts.2022.11.007). For *TNNI3*-variant iPSCs (2023), we demonstrated that the pathogenic variant impairs diastolic function in the engineered cardiac tissues (*Dev. Growth Differ.*, 2024. 66(2): p. 119-132. doi: 10.1111/dgd.12909. Epub 2024 Jan 9). Functional studies were also conducted for *PLN*-, *DMPK*-, and *LAMP2*-variant iPSC derived cardiomyocytes, with isogenic controls, to elucidate disease mechanisms.

With the growing impact of genomics in cardiomyopathy research, there is an urgent need for classification and therapeutic approaches based on molecular mechanisms. Gene therapies targeting specific cardiomyopathy subtypes using AAV vectors are already entering clinical application. In this context, a well-characterized iPSC library with genomic and clinical data represents a valuable resource for disease modeling and the advancement of precision medicine in cardiomyopathy.