

## 心臓細胞運命転換に関わる ECM の機能

小柴和子

東洋大学 生命科学部  
東京大学 分子細胞学研究所

### 【研究の背景】

これまで細胞外基質 (Extracellular Matrix; ECM) の主たる機能は器官や組織の保持と考えられてきたが、近年になり、力学的ストレスを介した細胞の分化運命決定という ECM の新たな役割が注目されている。我々はゼブラフィッシュを用いた研究から、弾性線維エラスチンが心臓前駆細胞の分化運命を制御していることを見出した<sup>1, 2)</sup>。多くの脊椎動物は心筋からなる心臓流出路を有しているが、真骨魚類は平滑筋からなる心臓流出路を持つ。真骨魚類の心臓流出路は動脈球と呼ばれ、弾性線維エラスチンに富み、その弾性によって血流の圧を調節することで、効率的に呼吸器官であるエラに血液を送ることを可能にしている。興味深いことに、真骨魚類には 2 種類のエラスチン遺伝子が存在し、そのうちのエラスチン 2 (*eln2*) が流出路特異的に発現している。そこで *eln2* の機能を調べるためにモルフォリノによる阻害実験を行ったところ、動脈球に異所的に心筋が分化してくることが分かった。*eln2* 機能阻害胚において心臓前駆細胞の移動に異常が認められなかったことから、*eln2* が心臓前駆細胞の心筋・平滑筋分化制御に重要な役割を担っていることが明らかになった。

### 【目 的】

未分化な細胞から目的の細胞種を分化させるために、多種多様な細胞分化誘導法や細胞培養液が開発されているが、ECM の性質や硬さも細胞分化において重要な要因であることが分かっている。本研究では ECM のひとつであるエラスチンが心臓前駆細胞の細胞運命と分化方向を制御している可能性を示唆した先行研究をもとに、培養系を用いてエラスチンの心臓細胞運命転換に関する機能を実証することを目的としている。本研究によって得られる成果は、未分化細胞 (ES 細胞・iPS 細胞) から心筋を分化誘導する際の課題となっている分化均一化に対する新たな制御方法に発展すると考えられる。

### 【方 法】

エラスチンが未分化細胞の運命決定を制御する分子機構を理解するとともに、新たな細胞分化誘導方法を立ち上げる。そのために、エラスチンの弾性と心臓前駆細胞の分化運命決定がどのように関連しているか、ゼブラフィッシュに発現する *eln1* と *eln2* からトロポエラスチン合成タンパク質を作製し、重合させた後に弾性を調べ、平滑筋分化誘導に関連する *eln2* の特性を明らかにする。また、弾性線維形成時にエラスチンとともに作用する因子に着目し、心臓流出路において特殊な性質を持つエラスチンが産生される機構について明らかにする。最終的にはエラスチンをコートしたディッシュを作製し、培養系における心臓前駆細胞の分化方向を調べる。

### 【結 果】

ゼブラフィッシュ *eln1*、*eln2* 遺伝子を発現ベクターに組み込み、大腸菌でトロポエラスチンを合成することを試みた。*eln1* については、トロポエラスチンの合成、重合に成功した。ヒトエラスチン、ゼブラフィッシュ *eln1*、2 の先祖型と考えられるポリプ

テルスエラスチン、そして *eln1* の重合条件と弾性について比較した。その結果、恒温動物、変温動物の差に由来すると考えられる重合条件の違いが認められた。弾性の違いについてもエラスチンの分子進化に関連する興味深い結果が得られている。また、エラスチンとともに作用する因子としてファイブリンに着目した。ファイブリンファミリーのうちファイブリン 5 がゼブラフィッシュの流出路に発現しているとの報告から、ファイブリン 5 をクローニングし *eln2* との発現比較を行っているところである。

## 【考 察】

エラスチンの性質を比較する実験から、動物種による性質の違いが見出されてきた。このような違いを利用することで将来的にエラスチンをバイオ素材として使用できる対象が広がることが期待される。ファイブリンについては今後、機能阻害実験等でゼブラフィッシュ心臓流出路における平滑筋分化への関与を明らかにしていく必要があるが、培養系で *eln2* を作用させる際の補助的な因子として用いることができるのではないかと考えている。ECM による弾性の違いは、細胞に対してメカニカルストレスとして作用する。実際、ゼブラフィッシュの流出路においても、メカニカルストレスの細胞内伝達因子である *yap* を阻害すると平滑筋分化が阻害され心筋分化が引き起こされることを見出している<sup>1)</sup>。しかし、心筋分化効率は *eln2* を阻害したときに比べると低いものであったことから、心筋／平滑筋分化とメカニカルストレスの関連についてはより一層の解析が必要であり、エラスチンを用いた培養系の確立においても重要な知見になると考えられる。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

多分化能を持つ細胞から単一の細胞を分化させることは非常に難しい。現行では、サイトカインの投与法や培養条件の検討、セルソーターによる細胞選別、細胞特異的な性質の差を利用した選別、などの手法が用いられている。しかしながらサイトカインは厳密な濃度条件の設定が困難であり、セルソーターや細胞特異的な毒素を利用した 2 次選別法では選別された、あるいは生存した細胞において細胞が傷ついてしまうことが危惧されている。本研究で目指す手法は ECM を使用した細胞分化、選別法である。ECM は弾性(硬さ)を調整することができ、それによって分化する細胞群の選別も可能になると考えられる。またサイトカインに比べると安価であることも利点である。このようなことから、ECM を用いた培養法の確立は臨床への応用性も高いと考えられる。

## 【参考・引用文献】

1. Moriyama Y., Ito F., Takeda H., Yano T., Okabe M., Kuraku S., Keeley F., Koshiba-Takeuchi K. (2016) Evolution of the fish heart by sub/neofunctionalization of an *elastin* gene. *Nature Communications* 7; 10397
2. 守山裕大、小柴和子 「elastin 遺伝子の重複と新規機能獲得による真骨魚類における心臓流出路の進化」 (2016) 実験医学 34;1771-1774.