

## タイプ別心筋のダイレクトリプログラミングにおける研究

楠筥博子, 竹内 純

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

### 【研究の背景】

胚発生過程における心臓誘導研究、および、胚性幹 (ES) 細胞/人為的多能性幹 (iPS) 細胞を用いた心筋誘導研究は、線維芽細胞から心筋への分化転換方法の樹立において大きく貢献した (Nakanishi et al., *Front. Physiol.* 2019; Lee et al., *Cell Stem Cell* 2017; Morita et al., *JMCC* 2016; Yang et al., *Nature* 2008)。しかしながら、機能性の異なる心筋タイプ (心房筋・心室筋) への分化転換に関しては確立されていない。また、心臓内線維芽細胞から誘導される心筋においても様々な性質があることも報告されている (Cui et al., *Cell Reports* 2019; Liu et al., *Nature* 2017)。この様なことから、線維芽細胞由来心筋を用いた臨床応用や創薬開発において課題点が残されている。

### 【目 的】

線維芽細胞から心筋へのリプログラム誘導法は確立されているが、機能の異なる固有心筋タイプ (心室筋・心房筋) への分化法に関しては確立されていない。本研究では、哺乳類において直接タイプ別心筋へ分化させる能力を持った因子の特定、および、分子制御機構を明らかにすることを、目的とする。

今までの知見から、リプログラム研究を遂行する上で発生過程における遺伝子発現情報データは無視できない。本研究においてもマウス・ヒト心臓発生時における遺伝子発現データを精査し、候補因子の絞り込みを行う。選出された候補因子は、線維芽細胞から直接各々のタイプ別心筋へリプログラム能力を保持している因子を分子生物学・分子生化学・電気生理学を用いて評価する。

### 【方 法】

本研究では、線維芽細胞から心筋へのリプログラム研究において、2 つの研究を推進する。

- ① **リプログラム・プログラム共通の特定因子の同定:** 哺乳類心臓誘導系と線維芽細胞を用いた分化誘導系における遺伝子発現とバイオインフォマティクス解析から直接機能性心室筋・心房筋へ分化誘導を引き起こす因子を特定する。
- ② **リプログラム効率を向上させる相乗効果特定因子の同定:** 上記候補因子は相乗的な機能を持ち合わせていると考えられる。組織学・生理学・分子生物学を統合した実験結果から分子メカニズムまで明らかにする。

### 【結 果】

- ① マウス組織・ヒト iPS 心筋分化誘導系を用いた遺伝子発現解析から心房・心室誘導に関わる心房筋特異的な 6 因子と心室筋特異的な 4 因子の候補因子を見いだした (図 1)。最終的に線維芽細胞を直接機能性心室筋および機能性心房筋へ分化させる因子を同定した。これらの因子には互いに分子的な抑制フィードバック機構を持ち合わせていることも見出した (現在、投稿準備中)。
- ② マウス胎仔から搾取した線維芽細胞を用いて、上記の候補因子の強制発現解析を行った結果、相乗的作用で機能し心室筋・心房筋分化効率および機能性を向上する因子群を見出した。

【考 察】

本研究において、心室筋・心房筋を誘導する因子は発生分化(プログラム)・分化転換(リプログラム) 共通に機能する因子が存在し、それぞれの因子と特異的に相互作用する補因子とともに分化効率を向上することを見出した。この研究結果は、今後 iPS 細胞を介さず線維芽細胞を用いて直接ヒト心筋症や不整脈研究に応用されることが期待される。しかしながら、心臓内に存在する線維芽細胞の性質理解およびこれらの細胞を用いたリプログラム研究結果においてはまだ考察の余地が残されている。さらに、基礎生物学的において、線維芽細胞の性質の理解することが、リプログラム効率・分化方向性を理解する上で残された重要な課題である。

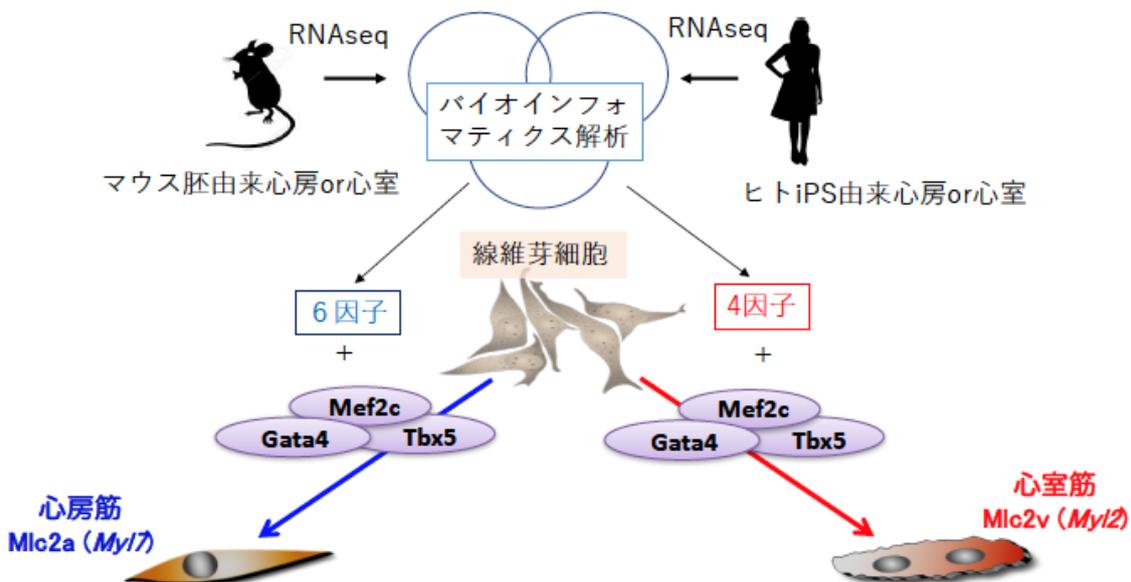
【臨床的意義・臨床への貢献度】

心疾患・心不全の緩和においては、心筋シート・分化心筋移植などの直接的なアプローチは大変意義があると考えられる。同様に、心臓内における線維芽細胞から心筋へ直接分化させる手法を開発することも重要である。この手法は、心臓内線維芽細胞の有効活用として期待されるが、心筋炎や心筋壊死などの 2 次的な疾病の発症を抑制することも期待される。また、本研究のアイデア・データは線維芽細胞の性質理解にも繋がり、心臓のみならず他臓器における研究への展開が期待される。次年度には、より臨床研究を目指している、筑波大学・ノースカロライナ大学・グラッドストーン研究所への研究ノウハウ、供給を行う計画である。

【参考・引用文献】

講演・発表

- 1: 「Epigenetic Regulation in Heart Regeneration」・日本循環器学会・Mar 28-30, 2019・Yokohama, Japan
- 2: 「Genetic/Epigenetic regulation in heart development and its regeneration」・Karolinska Symposium・July 2-4, 2019・Stockholm, Sweden
- 3: 「心房・心室の運命決定と分化転換を制御する因子群」・日本分子生物学会・12/3-6, 2019・福岡、日本
- 4: 「心室-心房の運命決定と分化転換を制御する因子群」日本再生医療学会・3/12-14・横浜、日本



(図 1)