

家田 真樹

慶應義塾大学 医学部・特任講師

直接リプログラミングによる心筋細胞誘導の確立と臨床への応用

§ 1. 研究実施体制

(1)「家田」グループ

① 研究代表者:家田 真樹(慶應義塾大学 医学部、特任講師)

② 研究項目

- ・ ヒト心臓線維芽細胞から直接リプログラミングによる心筋細胞誘導系の確立
- ・ マウス心筋梗塞モデルで内在性心臓線維芽細胞を直接心筋細胞に転換する-有効性、至適条件の検討

§ 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

研究のねらい

心臓病は死亡原因の上位を占め、心臓再生医療など新しい治療法の開発が期待されている。本研究では心臓内の線維芽細胞を幹細胞を介さないで直接心筋細胞に分化転換する技術の開発、およびその臨床応用に必要な研究を行う。これまでマウス細胞で3遺伝子導入により心臓線維芽細胞から心筋細胞への直接分化転換を確認しており、本年度はヒト細胞での心筋リプログラミングの検討を行なう。またマウス心筋梗塞モデルで生体内での線維芽細胞から心筋細胞への直接分化転換の至適条件の検討、有効性検証を行なう。

これまでの研究の概要

1. ヒト心臓線維芽細胞から直接リプログラミングによる心筋細胞誘導の系を確立する

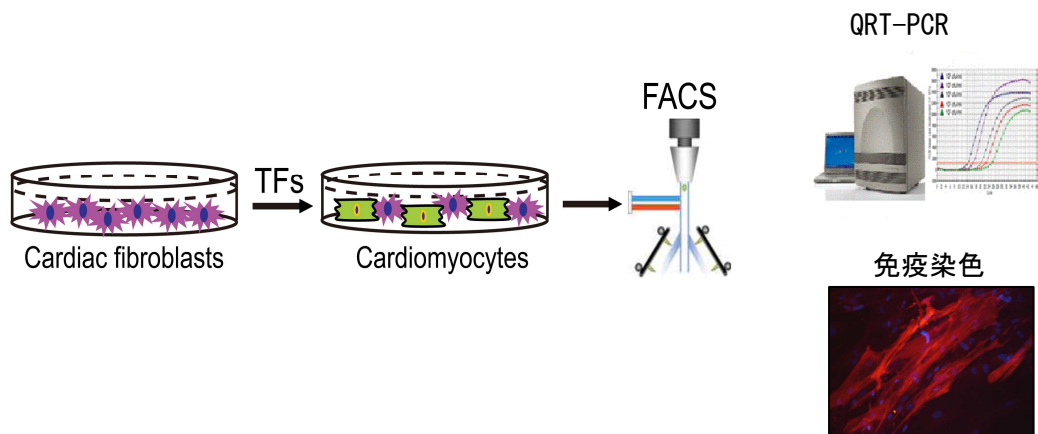
ヒト心臓線維芽細胞の培養系を確立し、今後の実験のために必要な細胞のストックを作製する。心筋誘導のスクリーニングを行い、心筋リプログラミング必須因子を決定する。

(1) 心筋リプログラミング因子のスクリーニング法の確立と心筋誘導実験

心臓外科手術でカニューレシヨンのため取り除く心筋組織から心臓線維芽細胞を培養し細胞の

ストックを作製する。心臓線維芽細胞から心筋細胞への転換を心筋マーカーの発現を指標としてFACS、QRT-PCR、免疫染色などを用いて解析して心筋誘導因子をスクリーニングする。

これまでの実験でヒト心臓線維芽細胞の培養の成功、80%以上の細胞に遺伝子導入する方法を確立した。最初マウスで使用した3因子(Gata4, Mef2c, Tbx5)により心筋プログラミングを行ったが十分な心筋誘導が見られなかった。現在他の因子からヒト心筋プログラミング候補因子のスクリーニングを行っている(図1)。



(図1) ヒト心筋誘導のスクリーニング方法

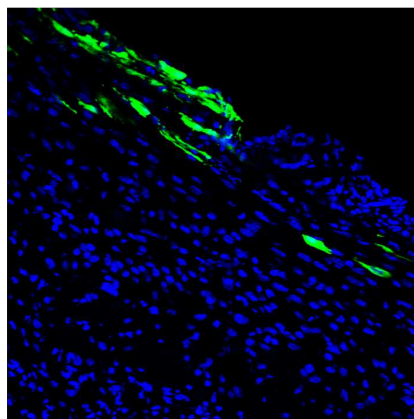
2. マウス心筋梗塞モデルで内在性心臓線維芽細胞を直接心筋細胞に転換する-有効性、至適条件の検討

リプログラミング因子を導入したマウス心筋梗塞モデルでの心筋誘導効率、その有効性などを評価する。

- (1) マウス心筋梗塞モデルで心筋リプログラミング因子を梗塞部に導入して心臓線維芽細胞を心筋細胞に転換する
- (2) 遺伝子導入方法の至適条件を検討する

これまでマウスに心筋梗塞を作成し、陰性対照としてGFPを、心筋誘導のためにはリプログラミング因子をレトロウイルスベクターで導入した。リプログラミング因子はレトロウイルスが心筋に感染しないことを利用し、方法としてGFPを同時に導入し非心筋細胞のfate mapを行っている(図2)。

(図2) 心臓線維芽細胞へのGFP遺伝子導入



研究進捗状況、研究成果、今後の見通し

現在予定通り順調に研究は進んでいる。今後ヒト誘導心筋の確立とその詳細な遺伝子プロファイル、生理的機能の検討を行う。またマウス実験では最適な遺伝子導入条件を検討し、心筋プログラミングの効率を確認する。有効性評価のために心エコー、遺伝子発現などを解析する予定である。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

(3-2) 知財出願

- ① 平成 23 年度特許出願件数(国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 0 件)