

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
- ・ 線維芽細胞から心筋細胞への直接リプログラミングにおける分子基盤を解明する

§ 2. 研究実施の概要

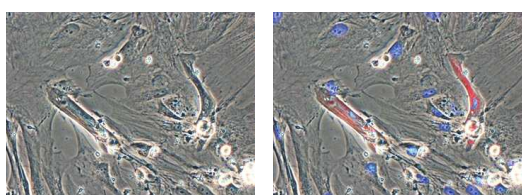
研究のねらい

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ずに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に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った。

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

ヒト心臓線維芽細胞および皮膚線維芽細胞を培養して心筋誘導を行った。マウスで有効であった3つの遺伝子 *Gata4*, *Mef2c*, *Tbx5* のみではヒト細胞の心筋誘導に不十分であることが分かった。そこで新たに心筋細胞特異的に発現している11の遺伝子の中からヒト心筋リプログラミングに必須の因子をスクリーニングした。その結果、GMT にさらに2因子(*Myocd*, *Mesp1*)を加えて5因子(GMTMM)にすることでヒト心筋誘導効率が著明に改善することを見出した(図1)。GMTMMにより誘導されたヒト心筋様細胞は心筋特異的な遺伝子発現を示し、心筋に特徴的な生理機能も確認でき論文報告した(Wada et al, PNAS, 2013)。



(図1) ヒト線維芽細胞からGMTMMにより心筋誘導。

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

我々は過年度に *Gata4*, *Mef2c*, *Tbx5*, 3つの遺伝子を効率よく遺伝子導入することで、生体内でも心筋梗塞部位の内在性線維芽細胞を心筋様細胞に直接リプログラミングできることを明らかにした(Inagawa et al, Circ Res, 2012)。しかしながらこれまでの研究でレトロウイルスは宿主染色体にインテグレーションして癌化を引き起こす可能性があること、また生体内線維芽細胞への遺伝子導入効率が低いことなど新たな課題が判明した。そこで本年度からDNAにインテグレーションしない、導入効率の良い新しいウイルスベクターの開発を行っており最適な遺伝子導入ベクターを検討している。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

1. Wada R, Muraoka N, Inagawa K, Yamakawa H, Miyamoto K, Sadahiro T, Umei T, Kaneda R, Suzuki T, Kamiya K, Tohyama S, Yuasa S, Kokaji K, Aeba R, Yozu R, Yamagishi H, Kitamura T, Fukuda K, Ieda M. Induction of human cardiomyocyte-like cells from fibroblasts by defined factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **110**:12667-72. 2013 (doi:10.1073/pnas.1304053110)