

## 平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：人工多能性幹細胞（iPS 細胞）作製・制御等の医療基盤技術
2. 研究開発課題名：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
3. 研究開発代表者： 家田 真樹（慶應義塾大学医学部）
4. 研究開発の成果

心臓病は我が国で死亡原因の上位を占め、新しい治療法の開発が求められている。心臓障害後、心筋細胞は終末分化細胞で再生できないため、心臓内の線維芽細胞が増殖、線維化をおこして心不全に至ることが知られている（Ieda et al, Dev Cell, 2009）。心臓再生医療は次世代の治療として期待されており、我々は心臓線維芽細胞を生体内で直接心筋細胞へ分化転換（心筋リプログラミング）できれば、これらの課題を克服し新しい心臓再生治療につながると考えて研究を開始した。我々はまずマウス心筋リプログラミング因子を探索して、2010年に心筋特異的な3つの転写因子（Gata4, Mef2c, Tbx5、以下 GMT）がマウス心筋リプログラミング因子であることを世界で初めて報告した（Ieda et al, Cell, 2010）。さらに本課題では心筋リプログラミング法の確立と臨床への応用を目指して以下の研究成果を得た。

#### 1. ヒト心筋リプログラミング因子の同定

我々は世界に先駆けて GMT3 因子に Myocd, Mesp1 を加えた 5 遺伝子によりヒト心筋リプログラミングに成功した。ヒト誘導心筋細胞は心筋に特徴的な自発的な Ca 濃度変化や、ほかの心筋細胞との共培養下で協調して拍動することを確認し、生理機能を有することも確認した（Wada et al., PNAS, 2013）。また 5 遺伝子に miR-133 を加えるとヒト心筋リプログラミングが約 10 倍改善することも報告した（Muraoka et al., EMBO J, 2014）。

#### 2. 心臓病モデル動物で生体内心筋リプログラミングの有効性・安全性を確立

心筋梗塞モデルマウスを用いた研究で、心臓に GMT 遺伝子を導入することで心筋梗塞部位の心臓線維芽細胞を直接心筋細胞に生体内で分化転換できることを示した。さらに GMT3 因子を同時に発現するポリシストロニックベクターを開発して、成熟した心筋様細胞の誘導効率改善に成功した（Inagawa et al. Circ Res, 2012）。

#### 3. 心筋リプログラミング法の改善と分子基盤解明

##### (1) マイクロ RNA による心筋リプログラミングの改善と分子基盤解明

心筋特異的マイクロ RNA である miR-133 がマウスおよびヒト心筋リプログラミングを著明に促進することを発見した。また miR-133 による心筋リプログラミングの分子メカニズム解析を行い、線維芽細胞のマスター因子である Snai1 が miR-133 の新規標的遺伝子であること、miR-133 が線維芽細胞の形質を抑制して心筋リプログラミングを促進することを発見した（Muraoka et al., EMBO J, 2014）。

##### (2) FGF2/FGF10/VEGF による心筋リプログラミングの改善と分子基盤解明

FGF2/FGF10/VEGF(以下 FFV)の3つの成長因子を無血清細胞培養液に添加することで GMT によるマウス心筋リプログラミングが著明に改善することを発見した。さらに FFV により Mef2c/Tbx5 の2因子のみで心筋誘導が可能であることを見出した。分子メカニズムとして FFV が PI3K/Akt や p38MAPK シグナルを介して心筋リプログラミング因子の発現を誘導して、心筋リプログラミングが改善することを明らかにした（Yamakawa et al., Stem Cell Reports, 2015）。

以上のように我々は本研究課題達成に向けて順調に研究をすすめて成果を発表した。これら心筋リプログラミングに関する先駆的な仕事は国際的にも高く評価され、海外一流誌にも総説を執筆した（Muraoka et al., Annu Rev Physiol, 2014, Sadahiro et al., Circ Res, 2015）。また研究成果は研究者間のみならず社会的にも大きなインパクトを与え、各種報道機関でも大きなニュースとなった。