

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム 幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム
(英語) Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) ダイレクトリプログラミングによる心臓再生と分子基盤解明
(英語) Direct reprogramming for heart regeneration

研究開発担当者 (日本語) 慶應義塾大学医学部内科学教室 (循環器) 専任講師 家田真樹
所属 役職 氏名： (英語) Department of Cardiology, Keio University School of Medicine, Associate Professor,
Masaki Ieda

実施期間： 平成 28年 11月 15日 ~ 平成 29年 3月 31日

分担研究 (日本語) 心筋増殖誘導因子発現 AAV ベクターによる心臓再生
開発課題名： (英語) Heart regeneration with the AAV vector inducing cardiomyocyte proliferation

研究開発分担者 (日本語) 日本医科大学 生化学・分子生物学(分子遺伝学) 准教授 三宅弘一
所属 役職 氏名： (英語) Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School,
Associate Professor, Koichi Miyake

分担研究 (日本語) リプログラミング作用化合物の開発と標的分子の同定
開発課題名： (英語) Development of chemical-induced cardiac reprogramming and identification of target
molecules

研究開発分担者 (日本語) 東京医科歯科大学難治疾患研究所 病態細胞生物学分野 教授 清水重臣
所属 役職 氏名： (英語) Medical Research Institute, Pathological Cell Biology, Tokyo Medical and Dental
University, Professor, Shigeomi Shimizu

II. 成果の概要（総括研究報告）

幹細胞から心筋細胞を作製して移植する心臓再生が期待されているが、心筋分化誘導効率、腫瘍形成の可能性、細胞の組織生着などの課題がある。これに対してダイレクトリプログラミングは目的細胞をその場で作り、移植を必要としない次世代の再生法である。我々は体細胞を心筋にリプログラミングする因子として Gata4, Mef2c, Tbx5 を発見し、さらに同遺伝子で生体内心筋リプログラミングに成功した (Ieda et al, Cell, 2010, Inagawa et al, Circ Res, 2012, Wada et al, PNAS 2013, Muraoka et al, EMBO J 2014, Sadahiro et al. Circ Res 2015)。しかし再生医療実現には心筋リプログラミングの安全・効率化やメカニズム解明が必要である。さらに体細胞を心臓前駆細胞にリプログラミングする因子や、成体心筋を胎児型増殖心筋に転換できる心筋増殖誘導遺伝子を発見できれば、革新的な心臓再生を創出できる。これまでこのように包括的なアプローチでダイレクトリプログラミングによる心臓再生に取り組んだ研究はない。そこで本研究では心筋リプログラミングの安全・効率化と分子基盤解明、心臓前駆細胞リプログラミング因子の同定、心筋増殖誘導因子の同定を行いダイレクトリプログラミングによる心臓再生への応用を目指す。本年度は心筋リプログラミングに関してはセンダイウイルスベクターによる心筋リプログラミング法の確立、化合物ライブラリーを用いたスクリーニングシステムの確立を行った。また心臓前駆細胞リプログラミング因子および心筋増殖誘導因子のスクリーニングと同定に成功した。

(1) センダイウイルスベクターによる安全・効率的な心筋リプログラミングと分子基盤解明

今年度は心筋リプログラミング因子を発現するセンダイウイルスベクターを作製して、*in vitro* でマウス線維芽細胞を用いて心筋リプログラミングを行った。その結果、拍動する心筋細胞を誘導することができ、さらに従来のレトロウイルスベクターを用いた方法と比べて約 100 倍心筋リプログラミング効率が改善することを見出した。

(2) 心筋リプログラミング促進化合物の同定と薬理作用の解明

Cell image analyzer を用いて心筋に分化転換すると蛍光を発する独自開発したスクリーニングシステムを用いた。研究分担者の清水から供与された機能未知の化合物ライブラリーを用いて心筋誘導化合物をハイスループットスクリーニングした。今年度の実験で 8400 化合物をスクリーニングして、6 化合物で心筋リプログラミングが改善することを見出した。

(3) 心臓前駆細胞リプログラミング因子の同定と幹細胞からの分化誘導

研究協力者の五島から供与された cDNA ライブラリーを用いて心臓前駆細胞リプログラミング因子を同定した。心臓前駆細胞で特異的に高発現する遺伝子情報や KO マウスの表現型を参考に 60 候補因子を探索した。今年度のスクリーニングの結果、新規心臓前駆細胞リプログラミング因子 X 導入により線維芽細胞で心臓前駆細胞のマーカー遺伝子である *Mesp1*, *Flk1*, *Pdgfra* などの発現が誘導されることがわかった。

(4) 心筋増殖誘導因子の同定と心筋再生

心筋増殖誘導因子はラット初代培養心筋細胞を用いてスクリーニングした。候補遺伝子は胎児期心筋細胞特異的に発現する 24 転写因子を選び、レンチウイルスベクターで遺伝子導入後に心筋細胞の増殖を EdU assay で解析した。今年度の実験の結果、心筋細胞特異的に増殖能を活性化する新規心筋増殖誘導遺伝子 Y を見出した。

Results

Cardiac regeneration using stem cell-derived cardiomyocytes is promising; however, there are several challenges that must be overcome before its clinical application, including the efficiency of cardiac differentiation, tumorigenesis due to contamination by immature cells, and poor survival of transplanted cells in host tissues. Direct reprogramming converts one cell into another without mediation through pluripotent stem cells (PSCs), in which cell transplantation is not necessary for tissue regeneration. We first found that the cardiac-specific transcription factors—Gata4, Mef2c, and Tbx5—reprogrammed mouse fibroblasts into induced cardiomyocyte-like cells (iCMs) *in vitro*. Furthermore, we found that *in vivo* direct cardiac reprogramming using the same factors could regenerate mouse infarct hearts (**Ieda et al, Cell, 2010, Inagawa et al, Circ Res, 2012, Wada et al, PNAS 2013, Muraoka et al, EMBO J 2014, Sadahiro et al. Circ Res 2015**). However, establishing safe and efficient cardiac reprogramming methods and understanding the molecular mechanisms of cardiac reprogramming are necessary to translate this new technology to the clinic. Moreover, identification of reprogramming factors to induce cardiac progenitor cells from fibroblasts and convert terminally differentiated adult cardiomyocytes into embryonic-type proliferative cardiomyocytes has received attention as an innovative approach for cardiac regeneration. A comprehensive and direct reprogramming approach for cardiac regeneration has not been explored previously. In this study, we will improve the efficiency and safety of cardiac reprogramming, determine the underlying molecular mechanisms of cardiac reprogramming, identify novel reprogramming factors for cardiac progenitor cells and for inducing cardiomyocyte proliferation, and apply these new findings to regenerative medicine in a comprehensive manner. Specifically, this year, we determined Sendai virus-mediated cardiac reprogramming, identified chemicals for efficient cardiac reprogramming, and identified reprogramming factors for cardiac progenitor cells and for inducing cardiomyocyte proliferation as described below.

To improve the safety and efficiency of cardiac reprogramming, we performed Sendai virus vector- and chemical-mediated cardiac reprogramming.

(1) Sendai virus vector-mediated cardiac reprogramming

Conventional direct cardiac reprogramming used retrovirus or lentivirus vectors for gene transfer, which may cause insertional mutagenesis. In contrast, Sendai virus vectors are RNA virus vectors that do not integrate into the host genome. We developed Sendai virus vectors encoding cardiac reprogramming factors to improve safety and efficiency. We found that Sendai virus vector-mediated cardiac reprogramming induced 100-fold more beating iCMs than the conventional retrovirus-mediated cardiac reprogramming *in vitro*.

(2) Chemical-induced cardiac reprogramming and identification of its pharmacological actions

We developed a high-throughput screening system in which cardiac reprogramming efficiency can be monitored by the expression of fluorescence by a cell image analyzer. The function unknown-chemical library was provided by a collaborator, Dr. Shimizu. This year, we screened 8400 chemicals and found that 6 greatly improved cardiac reprogramming *in vitro*.

(3) Identification of reprogramming factors for cardiac progenitor cells and differentiation from PSCs

We used a cDNA library to screen for reprogramming factors for cardiac progenitor cells. The cDNA library was kindly provided by Dr. Goshima. We screened 60 candidate genes that are highly expressed in cardiac progenitor cells and functionally important, based on mouse phenotypes following knockout of the genes. We found that a novel cardiac progenitor cell reprogramming factor X could directly convert mouse fibroblasts into cells expressing cardiac progenitor genes, including *Mesp1*, *Flk1*, and *Pdgfra*.

(4) Identification of genes inducing cardiomyocyte proliferation and cardiac regeneration

We screened for genes that induce cardiomyocyte proliferation using rat primary cultured cardiomyocytes. As embryonic cardiomyocytes have proliferative capacity, we selected 24 genes specifically expressed in embryonic cardiomyocytes. The candidate genes were transduced into rat cardiomyocytes by lentivirus vectors, and the rate of cell proliferation was determined by the EdU assay. We identified gene Y, which activated cardiomyocyte proliferation *in vitro*.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 8件、国際誌 3件）

1. Kojima H, **Ieda M**. Discovery and progress of direct cardiac reprogramming. *Cell Mol Life Sci*. 2017 Feb 14. doi: 10.1007/s00018-017-2466-4.
2. **Ieda M**, Heart Development, Diseases, and Regeneration- New Approaches From Innervation, Fibroblasts, and Reprogramming. *Circ J*. 2016 Sep 7.
3. Ono T, Kamimura N, Matsuhashi T, Nagai T, Nishiyama T, Endo J, Hishiki T, Nakanishi T, Shimizu N, Tanaka H, Ohta S, Suematsu M, **Ieda M**, Sano M, Fukuda K, Kaneda R. The histone 3 lysine 9 methyltransferase inhibitor chaetocin improves prognosis in a rat model of high salt diet-induced heart failure. *Sci Rep*. 2017;7:39752. doi: 10.1038/srep39752.
4. **家田真樹** 医学出版 レジデント 慶應循環器内科カンファレンス”経カテーテル大動脈弁留置術後に閉塞性肥大型心筋症様の血行動態となり心不全症状を呈した一例”，第9巻7号，p120-127，2016.
5. 九石優樹、**家田真樹** 日本臨床社 最新冠動脈疾患学（下巻） “再生医療—ダイレクトリプログラミング”，第74巻6号， p183-187， 2016.
6. 田村文弥、**家田真樹** 循環器専門医 ”Heart Regeneration by Direct Cardiac Reprogramming in Heart Failure”、第24巻第2号， p211-217， 2016.
7. **家田真樹** 心臓 心臓再生治療の現状と展望 インTRODクシヨN 第48巻第12号， p1333， 2016.
8. 貞廣威太郎、**家田真樹** 心臓 心臓再生治療の現状と展望 心筋リプログラミングによる心臓再生 第48巻第12号， p1351-1356， 2016.
9. 黒津祥太、**家田真樹** C l i n i c a l C a l c i u m メカノバイオサイエンス “心疾患とメカノバイオサイエンス” 第26巻12号， p1697-1702， 2016.
10. 山川裕之、**家田真樹** 細胞 心不全研究の最前線 “心不全患者に対する心筋再生医療の確立 - 創薬から心筋移植まで-” 第48巻12号， p586-590， 2016.
11. 宮本和享、**家田真樹** 心臓 第50回河口湖心臓討論会 “心筋直接リプログラミングによる心筋再生” 第49巻 第2号， p202-209， 2017.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. **Masaki Ieda 2016 ISHR World Congress Symposium** “Converting fibroblasts into cardiomyocytes”
Buenos Aires, Argentina **2016.4.18-21**
2. **Masaki Ieda Cardiovascular Development and Regeneration Symposium**, "Direct cardiac reprogramming and cell fate decision", San Francisco, USA **2016. 5.13-14**
3. **Masaki Ieda The 5th Gwangju-Boston Joint Cardiology Symposium**, “Making New Cardiomyocytes by Direct Reprogramming” Gwangju, South Korea **2016. 5.20-21**
4. **Masaki Ieda Tsukuba Global Science Week (TGSW) 2016** Toward the Application of Human Biology Basic Researches “Direct Cardiac Reprogramming, Regeneration, and Cell Fate Decision” Tsukuba, Japan **2016. 9.18**
5. **Masaki Ieda American Heart Association Scientific Sessions 2016**, Novel Insights into Cardiac Development, “Molecular Mechanisms of Cardiac Reprogramming”, New Orleans, USA **2016.11.12-16**
6. **Masaki Ieda Japan-Spain Joint Workshop on Nanomedicine Research** “Direct Cardiac Reprogramming and Heart Regeneration” Madrid, Spain **2016.12.1-2**
7. **Masaki Ieda American College of Cardiology: New York Cardiovascular Symposium** “Induced Pluripotent Stem Cells and Direct Cardiac Reprogramming – Solving Barriers for a Powerful Future: The 2016 New Experimental and Clinical Information” New York, USA **2016. 12.9-11**
8. **Masaki Ieda Joint MRC-AMED Workshop – Regenerative Medicine** “*Direct Cardiac Reprogramming and Heart Regeneration*” London, England **2017.3.1-2**
9. 家田真樹 「若手研究者フォーラム 2016 次世代バイオ医薬・再生医療を支える基盤技術開発」 “心筋直接リプログラミングの開発と再生医療への応用” 東京 **2016.7.26**
10. 家田真樹 犬山不整脈カンファランス “Fibroblast から心筋細胞への分化誘導” 名古屋 **2016.8.20**
11. 家田真樹 埼玉心臓集談会 “心臓の発生・病態の解明と心筋再生への挑戦” 埼玉 **2016.9.8**
12. 家田真樹 川口湖心臓討論会 “心筋直接リプログラミングによる心筋再生: Direct Cardiac Reprogramming and Heart Regeneration" 博多 **2016.9.10-11**
13. 家田真樹 MSD web 講演会 “心臓発生・病態解明と心筋再生への挑戦” 東京, **2016.10.26**
14. 家田真樹 CREST-PRIME 「メカノバイオロジー」領域ミーティング “伸展刺激による心筋リプログラミング制御の分子機構解明と心臓再生への応用” 東京 **2017.1.26-27**
15. 家田真樹 第7回 Tokyo Aztrium Cardiology Conference “心筋直接誘導による新しい心臓再生法の開発” 東京 **2017. 2.13**
16. 家田真樹 第81回日本循環器学会シンポジウム “Direct Cardiac Reprogramming for Heart Regeneration” 金沢 **2017. 3.17-19**
17. 家田真樹 第81回日本循環器学会 ラウンドテーブルディスカッション「重症心不全治療における非薬物的介入の今後への展望」 “Future Perspectives for Cardiac Regenerative Therapy by Direct Reprogramming” 金沢 **2017. 3.17-19**
18. 家田真樹 第81回日本循環器学会 心筋生検研究会ジョイントセッション “心筋リプログラミングにより心臓線維化を治療する” 金沢 **2017. 3.17-19**

19. 家田真樹 幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム事業内交流会 “ダイレクトリプログラミングによる心臓再生と分子基盤解明” 東京 2017. 3.22
20. 田村文弥、家田真樹、鈴木岳之、中谷晴昭、原田信広、古川哲史、黒川洵子 “心電図 QT 間隔に対するエストロゲン類の影響” 第 134 回薬理学会関東部会 東京 2016.7.9
21. Taketaro Sadahiro, Naoto Muraoka, Kazutaka Miyamoto, Hiroyuki Yamakawa, Hidenori Kojima, Shou Haginiwa, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda. “Tbx6 directly programs fibroblasts and pluripotent stem cells into cardiac mesodermal cells” 第33回国際心臓研究学会日本部会Featured Research Session、東京 2016.12.16-17
22. Kazutaka Miyamoto, Hiroyuki Yamakawa, Naoto Muraoka, Taketaro Sadahiro, Tomohiko Umei, Mari Isomi, Mizuha Akiyama, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda. “自然免疫シグナル活性化を機序としたセンダイウイルスを用いた効率的かつ安全な心筋直接誘導法の確立” ”第20回日本適応医学会学術集会、東京 2016.12.16-17
23. 田村文弥、家田真樹、鈴木岳之、福田恵一、中谷晴昭、原田信広、古川哲史、黒川洵子 “女性ホルモンが心電図QT間隔に与える影響” 第20回日本適応医学会学術集会、東京 2016.12.16-17
24. Kazutaka Miyamoto, Hiroyuki Yamakawa, Naoto Muraoka, Taketaro Sadahiro, Mari Isomi, Mizuha Akiyama, Tsunehisa Yamamoto, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda “Efficient and Safe Cardiac Reprogramming using Sendai Viral Vectors” 第81回日本循環器学会 金沢 2017.3.17-19
25. Taketaro Sadahiro, Mari Isomi, Naoto Muraoka, Kazutaka Miyamoto, Hiroyuki Yamakawa, Hidenori Kojima, Shou Haginiwa, Mizuha Akiyama, Yuki Kuishi, Shugo Tohyama, Hiroyuki Miyoshi, Yoshifumi Kawamura, Naoki Goshima, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda. “Tbx6 Induces Cardiac Mesoderm Program in Fibroblasts and Pluripotent Stem Cells” 第81回日本循環器学会 金沢 2017.3.17-19

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム 幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム

(英語) Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine

研究開発課題名：(日本語) ダイレクトリプログラミングによる心臓再生と分子基盤解明／リプログラミング作用化合物の開発と標的分子の同定

(英語) Direct reprogramming for heart regeneration／Development of chemical-induced cardiac reprogramming and identification of target molecules

研究開発担当者 (日本語) 東京医科歯科大学難治疾患研究所 病態細胞生物学分野 教授 清水重臣
所属 役職 氏名：(英語) Medical Research Institute, Pathological Cell Biology,

Tokyo Medical and Dental University, Professor, Shigeomi Shimizu

実施期間：平成 28 年 11 月 15 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：慶應義塾大学・医学部・家田真樹 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 8 件、国際誌 10 件)

1. Yoshida T, Tsujioka M, Honda S, Shimizu S. Autophagy suppresses cell migration by degrading GEF-H1, a RhoA GEF. *OncoTarget*. 2016, 7, 34420-9.
2. Nasu Y, Benke A, Arakawa S, Yoshida G, Kawamura G, Manley S, Shimizu S, Ozawa T. In situ characterization of Bak clusters responsible for cell death using single molecule localization microscopy. *Scientific Reports*. 2016, 6, Article number: 27505.

3. Yamaguchi H, Arakawa S, Kanaseki T, Miyatsuka T, Fujitani Y, Watada H, Tsujimoto Y, Shimizu S. Golgi membrane-associated degradation pathway in yeast and mammals. *EMBO J*. 2016, 35, 1991-2007.
4. Konishi A, Izumi T, Shimizu S. TRF2 interacts with core histones to stabilize chromosome ends. *J. Biol. Chem*. 2016, 291, 20798-810.
5. Torii S, Yoshida T, Arakawa S, Honda S, Nakanishi A, Shimizu S. Identification of PPM1D as an essential Ulk1 phosphatase for genotoxic stress-induced autophagy. *EMBO R*. 2016, 11, 1552-1564.
6. Watanabe Y, Honda S, Konishi A, Arakawa S, Murohashi M, Yamaguchi H, Torii S, Tanabe M, Tanaka S, Warabi E, Shimizu S. Autophagy controls centrosome number by degrading Cep63. *Nature Commun*. 2016, 7, Article number: 13508.
7. Arakawa S, Honda S, Torii S, Tsujioka M, Shimizu S. Monitoring of Atg5-independent Mitophagy. "Mitophagy" Volume in 'Methods in Molecular Biology Springer Press, 2016, *in press*.
8. Kozaki T, Komano J, Kanbayashi D, Takahama M, Misawa T, Satoh T, Takeuchi O, Kawai T, Shimizu S, Matsuura Y, Akira S, Saitoh T. Mitochondrial damage elicits a TCDD-inducible poly(ADP-ribose) polymerase-mediated antiviral response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2017, 114, 2681-2686.
9. Arakawa S, Tsujioka M, Yoshida T, Tajima-Sakurai H, Nishida Y, Matsuoka Y, Yoshino I, Tsujimoto Y, Shimizu S. Role of Atg5-dependent cell death in the embryonic development of Bax/Bak double-knockout mice. *Cell Death and Differ*. 2017, *in press*
10. Arakawa S, Honda S, Yamaguchi H, Shimizu S. Molecular mechanisms and physiological roles of Atg5/Atg7-independent alternative autophagy *Proceedings of the Japan Academy, Series B*. 2017, *in press*

- 1, 清水重臣. オートファジーと細胞死. 実験医学増刊号「細胞死」2016, 55-61.
- 2, 清水重臣. 細胞を浄化する新たなメカニズムの発見. 「御茶の水医学雑誌」2016, 64: 91-103.
- 3, 清水重臣. Autophagy、細胞死と疾患. 「日本外科学会雑誌」2016, 117: 622-624.
- 4, 清水重臣. オートファジーと細胞死. 「肝胆膵」2016, 73: 157-162.
- 5, 清水重臣. ミトコンドリア変調を病因とする脳神経疾患. 「脳 21」2016, 19: 38-43.
- 6, 清水重臣. ミトコンドリア消失機構の分子基盤. 「医学のあゆみ」2017, 260: 31-36.
- 7, 清水重臣. 新たなオートファジー機構の発見. 「DOJIN news」2017, 160: 1-7.
- 8, 清水重臣. オートファジー欠損マウスの解析から見出した新規オートファジー機構. 「LABIO」2017, 印刷中.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 「Autophagy、細胞死と疾患」口頭、清水重臣、第 89 回 外科学会 卒後教育セミナー、2016/4/16、国内。
2. “Identification of natural product against fatty liver disease based on the induction of alternative autophagy” 口頭、清水重臣、ICNIM2016, 2016/7/15 国内。
3. 「オートファジーと細胞死の接点」口頭、清水重臣、日本 Cell Death 学会主催セミナー、2016/8/25、国内。
4. “Alternative Autophagy is Essential for Neuronal Cell Maintenance” 口頭、清水重臣、Brain Protein Aging and Dementia Control International Workshop, 2016/9/9 国内。
5. 「ミトコンドリアの品質管理とその破綻による疾患」口頭、清水重臣、同仁化学研究所セミナー、2016/9/29、国内。
6. “Macroautophagy mediates elimination of mitochondria from embryonic reticulocytes” 口頭、清水重臣、第 78 回日本血液学会、2016/10/13、国内。
7. “Mitophagy and alternative autophagy” 口頭、清水重臣、The 13th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine, 2016/10/31、国内。
8. 「DNA 傷害誘導性オートファジーを制御する PPM1D 分子の役割」口頭、鳥居暁、吉田達士、荒川聡子、本田真也、清水重臣、第 10 回オートファジー研究会、2016/11/14、国内。
9. 「DNA 傷害誘導性オートファジーを制御する PPM1D 分子の役割」ポスター、鳥居暁、吉田達士、荒川聡子、清水重臣、第 39 回分子生物学会、2016/11/30-12/02、国内。

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 高校生への生物学紹介、清水重臣、海城高校、2016/7/22、国内。
2. 「細胞内のタンパク質を分解する新しい仕組み GOMED を発見—糖尿病罹患者の血糖調節への関与の可能性」、清水重臣、プレスリリース(EMBO J)、2016/8/16、国内。
3. 「放射線による細胞死を抑制するメカニズムを解明-オートファジーの新たな細胞保護機構-」、清水重臣、プレスリリース(EMBO R)、2016/9/12、国内。
4. 「体の中のゴミ処理機構とその異常による病気」、清水重臣、文京区市民公開講座、2016/10/21、国内。
5. 「染色体の均等分配に必須の中心体数を正確に制御する新たなメカニズムを解明」、清水重臣、プレスリリース(Nature Commun)、2016/11/21、国内。
6. 「オートファジーと疾患」、清水重臣、東京医科歯科大学平成 28 年度第 5 回記者懇談会、2016/12/15、国内。

(4) 特許出願

なし

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム
(英語) Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine

研究開発課題名： (日本語) ダイレクトプログラミングによる心臓再生と分子基盤解明／心筋増殖誘導因子発現 AAV ベクターによる心臓再生
(英語) Direct reprogramming for heart regeneration／Heart regeneration with the AAV vector inducing cardiomyocyte proliferation

研究開発担当者 (日本語) 日本医科大学 医学部 准教授 三宅 弘一
所属 役職 氏名： (英語) Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School, Associate Professor, Koichi Miyake

実施期間： 平成28年11月15日 ～ 平成29年3月31日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者： 慶應義塾大学・医学部内科学教室 (循環器)・家田真樹
総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0件、国際誌 2件)

1. Takahashi K, Igarashi T, **Miyake K**, Kobayashi M, Yaguchi C, Iijima O, Yamazaki Y, Katakai Y, Miyake N, Kameya S, Shimada T, Takahashi H, Okada T. Improved Intravitreal AAV-Mediated Inner Retinal Gene Transduction after Surgical Internal Limiting Membrane Peeling in Cynomolgus Monkeys. *Mol Ther*. 2017 Jan 4;25(1):296-302. doi: 10.1016/j.ymthe.2016.10.008.

2. Ito N, Sakai A, Miyake N, Maruyama M, Iwasaki H, **Miyake K**, Okada T, Sakamoto A, Suzuki H. miR-15b mediates oxaliplatin-induced chronic neuropathic pain through BACE1 down-regulation. *Br J Pharmacol*. 2017 Mar;174(5):386-395. doi: 10.1111/bph.13698.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

国際学会

1. Kobayashi M, Igarashi T, **Miyake K**, Miyake N, Nakamoto K, Hirai Y, Takahashi H, Okada T. Tyrosine-mutated AAV2 (Y730, 500, 444F) mediated BDNF rescued inner retina in rat retinal ischemic injury model. The European Society of Gene and Cell Therapy (ESGCT) Florence, 18 to 21 October 2016

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
無し

(4) 特許出願
無し