

Banyu Foundation Research Grant 2010—生活習慣病領域—

研究成果最終報告書<概要>

施設・所属: 国立循環器病研究センター・再生医療部 氏名 山原 研一

1. 概要の構成は自由ですが、研究助成報告として広報資料に掲載されます点をご留意ください。
2. 研究目的、研究手法、研究成果など、一般の方にもわかりやすくしてください。
3. 枚数は1ページでまとめてください。(図表、写真などの添付を含む)

<研究目的>

本研究では、我々が持つ ES・iPS 細胞からの血管内皮・平滑筋細胞分化誘導技術を用い、細胞分化過程における microRNA(miRNA)発現とその意義に関し、成人血管構成細胞との比較検討から検証し、miRNA に関連した新しい血管分化メカニズムを解明することをその目的とした。

<研究手法>

miRNA は長さ 20-25 塩基のたんぱく質をコードしていない 1 本鎖 RNA であり、他の遺伝子発現調節に関与している。中でも miR-145 は、平滑筋細胞に導入することにより分化型に変化(Circ.Res.2009;105;158-166)させることが報告され、平滑筋発生・分化における miR-145 の重要性がクローズアップされている。

我々はこれまでに ES 細胞から血管内皮および平滑筋細胞の系統的分化誘導法を確立している(PLoS One. 2008;3:e1666)。未分化 ES 細胞をフィーダー細胞 OP9 と共培養することにより VEGFR2 陽性細胞が誘導され、更に至適条件下に内皮および平滑筋細胞が誘導される。そこで、本方法にて得られる ES 細胞由来平滑筋細胞における miR-145 発現を検討し、平滑筋細胞分化における miR-145 の意義を検討した。更に ES 細胞由来平滑筋細胞に miR-145 の前駆体である pre-miR-145 を導入した場合の平滑筋分化を、各種血管平滑筋マーカー (calponin, caldesmon, SM-MHC) 発現、細胞増殖性 (MTT アッセイ)、細胞収縮性 (カルバコール) により評価した。miR-145 は ES 細胞由来平滑筋細胞において、大動脈血管平滑筋細胞と同等の強い発現を認めた。各種平滑筋マーカー発現は、ES 由来平滑筋細胞において miR-145 導入によりその発現増強を認めた。また、同細胞における細胞増殖性は miR-145 導入により低下し、収縮性に関しては逆に亢進を認めた

<研究成果>

我々の検討から、miR-145 を導入した ES 細胞由来平滑筋細胞はより分化した平滑筋細胞であることが示された。現在、miR-145 が持つ強力な血管平滑筋分化誘導効果の治療応用を目指し、頸動脈静脈グラフトモデルを用いた検討の共同研究を行っている。また、最近 miR-145 以外にも細胞分化をターゲットにした miRNA が多数報告されていることから、今後も miRNA が関与する血管分化メカニズムの解明を目指し、研究を継続していきたい。

**Banyu Foundation Research Grant 2010—生活習慣病領域—
研究成果最終報告書<発表実績/予定一覧>**

施設・所属: 国立循環器病研究センター・再生医療部 氏名 山原 研一

	発表時期	発表学会または論文掲載/投稿誌
1	2010年10月	第33回日本高血圧学会総会 ヒト ES 細胞由来血管平滑筋細胞の分化誘導における miR-145 の役割
2	2010年11月	AHA scientific sessions 2010 The Role of Microrna-145 in Human Embryonic Stem Cell Differentiation Into Smooth Muscle Cells Circulation. 2010;122:A15151
3	2011年4月	第11回日本抗加齢医学会総会 ヒト ES 細胞由来血管構成細胞における microRNA 145 の役割
4	2011年8月	山原研一, 本間康一郎, 山口慎太郎, 伊藤裕 【マイクロ RNA と循環器疾患】血管平滑筋分化とマイクロ RNA(解説/特集) 血管医学(1345-9031)12巻3号 Page241-245(2011.08)
5	2011年8月	ESC congress 2011 The role of microRNA-145 in the differentiation of human embryonic stem cells into smooth muscle cells European Heart Journal (2011) 32 (Abstract Supplement), 818
6	2011年9月	Yamaguchi S, Yamahara K, Homma K, Suzuki S, Fujii S, Morizane R, Monkawa T, Matsuzaki Y, Kangawa K, Itoh H. The role of microRNA-145 in human embryonic stem cell differentiation into vascular cells. Atherosclerosis. 2011 Dec;219(2):468-74. Epub 2011 Sep 9.