

Banyu Foundation Research Grant 2011—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	学校法人慶應義塾大学
氏 名	家田 真樹
研究テーマ	直接リプログラミングによる心筋再生と新しい心筋梗塞治療法の開発

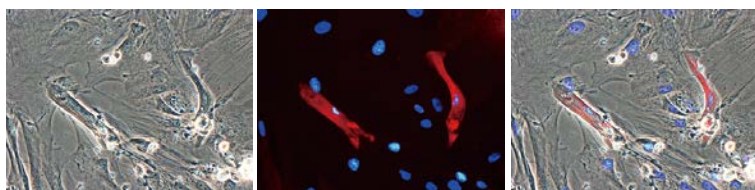
- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

研究目的

心筋は再生能力がないため、心臓障害後は線維芽細胞の増殖により線維瘢痕化し心不全に至る。現在心臓再生医療は未来の治療として期待されているが、これまで線維化してしまった組織を元の心筋に戻すような治療法はない。我々は心臓線維芽細胞を生体内において直接心筋細胞へ分化転換できれば新しい心臓再生治療につながる可能性があると考え研究を開始した。これまでに *in vitro* の実験系でマウス心臓線維芽細胞に心筋細胞特異的な3つの転写因子(Gata4, Mef2c, Tbx5, 以下 GMT)を導入することで、iPS 細胞のような幹細胞を経ることなく直接心筋様細胞(誘導心筋細胞)を作製することに成功した (Ieda et al, Cell, 2010)。本研究課題ではこの心筋直接リプログラミングによる新しい心臓再生研究をさらにすすめ、(1) ヒトの心臓線維芽細胞から直接心筋細胞を作製すること、(2) マウス心筋梗塞モデルを用いて直接リプログラミングにより生体内で内在性心臓線維芽細胞を心筋に転換することを目標とした。

研究手法と結果**(1) ヒトの線維芽細胞から直接心筋細胞を誘導に成功**

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た(Wada et al, PNAS, 2013)。



(図 1) ヒト線維芽細胞からGMTMMより心筋誘導。

(2) 生体内で内在性心臓線維芽細胞を心筋に直接転換に成功

生体内で心臓線維芽細胞を直接心筋細胞へ転換できるか検討した。マウス急性心筋梗塞モデルを作製して、開胸下で直接マウス心筋梗塞部位に遺伝子導入を行った。陰性対照では線維芽細胞から心筋細胞への誘導はみられなかった。それに対して3つの心筋リプログラミング遺伝子(GMT)を個別に作成し混ぜて導入したところ、心筋梗塞部位の内在性心臓線維芽細胞を心筋様細胞に転換することができた。さらに遺伝子導入効率改善のため3因子を同時に発現できるポリシストロニックベクターを開発し、このベクターにより成熟した心筋様細胞の誘導効率を2倍に改善できることも示した(Inagawa et al, Circ Res, 2012)。本論文は Circulation Research 誌の表紙を飾り、2012年のTOP10 articlesとして表彰された。また研究成果(1)(2)は各マスメディアでも報道されて社会的にも大きな反響があった。

研究成果

本研究によってヒトの心筋直接誘導に成功し、マウス心筋梗塞モデルで心筋再生に成功した。本成果は生活習慣病の重大な合併症である心筋梗塞の新しい治療法開発に向けて大きな前進である。

Banyu Foundation Research Grant 2011—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <発表実績/予定一覧>

所 属	学校法人慶應義塾大学
氏 名	家田 真樹

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 掲載年次順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。 国内外雑誌を問わない。 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。
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. <i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> . 110 (31):12667-72. (2013). 査読有
2	Qian L, Berry EC, Fu JD, Ieda M , Srivastava D. Reprogramming of mouse fibroblasts into cardiomyocyte-like cells in vitro. <i>Nat Protocol</i> . 8(6):1204-15, (2013). 査読有
3	Ieda M . Heart regeneration using reprogramming technology. <i>Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci</i> . 89(3):118-28, (2013). 査読有
4	Inagawa K. and Ieda M . Direct Reprogramming of Mouse Fibroblasts into Cardiac Myocytes. <i>J Cardiovasc Transl Res</i> . 6:37-45, (2013). 査読有
5	Srivastava D, Ieda M , Fu J, Qian L. Cardiac repair with thymosin β 4 and cardiac reprogramming factors. <i>Ann N Y Acad Sci</i> . 1270:66-72, (2012). 査読有
6	Inagawa K, Miyamoto K, Yamakawa H, Muraoka N, Sadahiro T, Umei T, Wada R, Katsumata Y, Kaneda R, Nakade K, Kurihara C, Obata Y, Miyake K, Fukuda K, Ieda M . Induction of Cardiomyocyte-like Cells in Infarct Hearts by Gene Transfer of Gata4, Mef2c, and Tbx5. <i>Circulation research</i> . 111:1147-56, (2012). 査読有
7	Nishiyama, T., Kaneda, R., Ono, T., Tohyama, S., Hashimoto, H., Endo, J., Tsuruta, H., Yuasa, S., Ieda, M. , Makino, S., et al. miR-142-3p is essential for hematopoiesis and affects cardiac cell fate in zebrafish. <i>Biochemical and biophysical research communications</i> . 425:755-61, (2012). 査読有
8	Srivastava, D., and Ieda, M . Critical factors for cardiac reprogramming. <i>Circulation research</i> . 111:5-8, (2012). 査読有
9	Ieda, M. , and Fukuda, K. Cardiomyocyte generation using stem cells and directly reprogrammed cells. <i>Frontiers in bioscience</i> . 4:1413-1423, (2012). 査読有
10	Kimura, K., Ieda, M. , and Fukuda, K. Development, maturation, and transdifferentiation of cardiac sympathetic nerves. <i>Circulation research</i> . 110:325-336, (2012). 査読有
11	Onizuka T, Yuasa S, Kusumoto D, Shimoji K, Egashira T, Ohno Y, Kageyama T, Tanaka T, Hattori F, Fujita J, Ieda M , Kimura K, Makino S, Sano M, Kudo A, Fukuda K.. Wnt2 accelerates cardiac myocyte differentiation from ES-cell derived mesodermal cells via non-canonical pathway. <i>J Mol Cell Cardiol</i> . 52(3):650-9, (2012). 査読有

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題 (招待講演のみ記載)
1	2013.3.27-3.29	Stem Cell and Regenerative Medicine Global Congress 2013, <u>Masaki Ieda</u>, “Direct Reprogramming of Fibroblasts into Cardiomyocyte-like Cells in Infarct Hearts” Seoul, South Korea.
2	2013.3.15-3.17	第 77 回日本循環器学会学術集会 プレナリーセッション, <u>Masaki Ieda</u> , “Direct Conversion of Fibroblasts into Cardiomyocyte-like Cells by Defined Factors”, 横浜
3	2012.12.11-12.14	第 35 回日本分子生物学会年会ワークショップ, 家田真樹 , 直接リプログラミング法による心筋誘導
4	2012.11.7-11.9	Oulu Center for Cell Matrix Research (OCCMR) Symposium. <u>Masaki Ieda</u> , “Reprogramming of Fibroblasts in Infarct Hearts into Cardiomyocyte-like Cells by Defined Factors”, Oulu, Finland.
5	2012.10.9	Heidelberg University Seminar, <u>Masaki Ieda</u> , “Induction of Cardiomyocyte-like Cells in vitro and vivo by Defined Factors” Heidelberg Germany.
6	2012.8.30-8.31	Korean Society for Stem Cell Research (KSSCR), <u>Masaki Ieda</u> , “Induction of Cardiomyocyte-like Cells by Defined Factors” Incheon international city, South Korea.
7	2012.7.5	第48回日本小児循環器学会 会長特別企画 世紀の発見が医療を変える、 家田真樹 、“直接リプログラミングによる心筋細胞の作製” 京都
8	2012.6.13	第11回日本再生医療学会 プレナリーセッション 幹細胞 reprogramming の現状と展望, 家田真樹 、“心筋直接リプログラミング法による心臓再生” 横浜
9	2012.5.24	2012 Innovative Research Institute for Cell Therapy (IRICT) Spring Symposium, <u>Masaki Ieda</u> , “ Conversion of Fibroblasts into Cardiomyocytes by Defined Factors” Seoul, South Korea.
10	2012.2.23	CiRA International Symposium 2012, <u>Masaki Ieda</u> , "Direct Reprogramming of Fibroblasts into Cardiomyocytes by Defined Factors" Kyoto, Japan
11	2011.12.13-12.16	第 34 回日本分子生物学会年会ワークショップ, <u>Masaki Ieda</u> “Induction of cardiomyocytes from fibroblasts by defined factors” 横浜
12	2011.12.3	International Society for Heart Research (ISHR), Current Status and Future Perspective in Cardiovascular Regenerative Medicine, <u>Masaki Ieda</u> , “Direct Cardiac Reprogramming by Defined Factors”
13	2011.11.12-11.16	American Heart Association Scientific Sessions 2011, Pluripotent Stem Cell Biology, <u>Masaki Ieda</u> , “Direct Reprogramming of Fibroblasts into Functional Cardiomyocytes”, Orlando, Florida, USA.
1. 投稿、発表予定(投稿中の論文も含める)		