

研究助成 2021 – 生活習慣病領域 –

研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	筑波大学医学医療系 循環器内科
氏 名	貞廣威太郎
研究テーマ	生体内心筋リプログラミングによる慢性心不全治療法の開発

- 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、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。
(図表、写真などの貼付を含む)

【目的】心不全患者数は世界的に急増している。本研究は、新規治療が熱望される心筋梗塞後の慢性心不全に対し、心筋直接リプログラミングによる革新的な心臓再生法の確立を目的とする。

【方法】心筋梗塞後慢性心不全モデルマウスを作製し、心筋直接リプログラミングによる心臓再生が可能かを検討し、その分子生物学的な再生機構を明らかにする。薬剤投与により陳旧性心筋梗塞の心臓線維芽細胞特異的にリプログラミング遺伝子と、蛍光タンパク質を発現する遺伝子改変マウスを作製する。このマウスを使用し、再生心筋細胞の詳細な評価や、心不全治療・抗線維化効果を検証する。

【研究成果】

1. 心臓線維芽細胞選択的に心筋リプログラミング遺伝子を発現する遺伝子改変マウスの作製

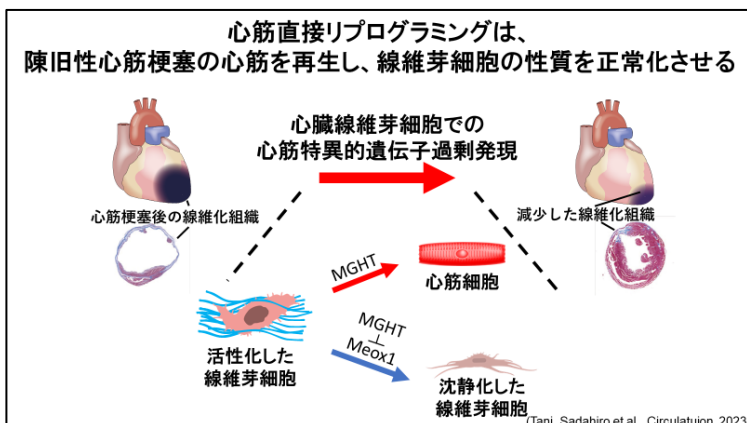
心臓内線維芽細胞に4つの心筋リプログラミング遺伝子を時期・部位特異的に発現制御できる CAG-CAT-MGTH2A Tg マウスと、タモキシフェン誘導性の線維芽細胞特異的 Cre マウス (Tcf21-iCre Tg) と R26tdTomato レポーターマウスと交配し、トリプルトランスジェニック (TTg) マウスを作製した。

2. 陳旧性心筋梗塞モデルにおける心筋リプログラミング法の開発

TTg マウスに心筋梗塞を作製して、慢性心不全の状態でタモキシフェンを投与し、心筋リプログラミングを開始した。投与後2か月(心筋梗塞3か月後)の心臓組織切片では、**梗塞巣周囲心臓線維芽細胞の約2%が心筋細胞へと再生し、心筋梗塞領域が縮小する**ことが明らかになった。再生した心筋細胞は周囲の心筋細胞とCx43を介して結合しており、**失われた心臓収縮機能も改善**した。

3. 心筋リプログラミングが果たす抗線維化機構の解明

心筋リプログラミングによる抗線維化機構解明のため、心筋梗塞3か月に行ったシングルセル解析の結果、心臓線維芽細胞は7種類の異なる細胞集団から構成され、その中には線維化組織形成を促進する線維芽細胞集団(悪玉線維芽細胞)が含まれていた。さらに心筋リプログラミング因子の発現によって、この悪玉線維芽細胞は線維化関連遺伝子発現が低い健全な線維芽細胞(善玉線維芽細胞)の状態に変化する事が明らかとなった。これらの結果から、心筋リプログラミングが**1. 線維芽細胞からの心筋再生**、**2. 抗線維化**という2つの機序で心筋梗塞後の心不全を改善させることが判明した。(右図)



研究助成 2021 – 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	筑波大学医学医療系 循環器内科
氏	名	貞廣威太郎

1. 論文発表実績

- 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	Abe Y*, Tani H*, <u>Sadahiro T*</u> , Yamada Y, Akiyama T, Nakano K, Honda S, Ko S, Anzai A, Ieda M: Cardiac reprogramming reduces inflammatory macrophages and improves cardiac function in chronic myocardial infarction. <i>Biochem Biophys Res Commun</i> 690: 149272, 2023. *Equal contributors. 査読有.
2	Akiyama T*, <u>Sadahiro T*</u> , Yamada Y, Fujita R, Abe Y, Nakano K, Honda S, Ema M, Kubota Y, Sakai S, Hizawa N, Ieda M: Flk1 Deficiency and Hypoxia Synergistically Promote Endothelial Dysfunction, Vascular Remodeling, and Pulmonary Hypertension. <i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i> 43: 1668-1683, 2023. *Equal contributors. 査読有.
3	<u>Sadahiro T*</u> , Tani H*, Ieda M: Response by Sadahiro et al to Letter Regarding Article, "Direct Reprogramming Improves Cardiac Function and Reverses Fibrosis in Chronic Myocardial Infarction". <i>Circulation</i> 148: 172-173, 2023. *Equal contributors. 査読有.
4	Kojima H, <u>Sadahiro T*</u> , Muraoka N, Yamakawa H, Hashimoto H, Ishii R, Goshō M, Abe Y, Yamada Y, Nakano K, Honda S, Fujita R, Akiyama T, Sunagawa Y, Morimoto T, Tsukahara T, Hirai H, Fukuda K, Ieda M: MEF2C/p300-mediated epigenetic remodeling promotes the maturation of induced cardiomyocytes. <i>Stem Cell Reports</i> 18: 1274-1283, 2023. *Equal contributors. 査読有.
5	Fujita R, Mizuno S, <u>Sadahiro T</u> , Hayashi T, Sugasawa T, Sugiyama F, Ono Y, Takahashi S, Ieda M: Generation of a MyoD knock-in reporter mouse line to study muscle stem cell dynamics and heterogeneity. <i>iScience</i> 26: 106592, 2023. 査読有
6	Yamada Y*, <u>Sadahiro T*</u> , Ieda M: Development of direct cardiac reprogramming for clinical applications. <i>J Mol Cell Cardiol</i> 178: 1-8, 2023. *Equal contributors. 査読有.

7	Tani H*, Sadahiro T* , Yamada Y, Isomi M, Yamakawa H, Fujita R, Abe Y, Akiyama T, Nakano K, Kuze Y, Seki M, Suzuki Y, Fujisawa M, Sakata-Yanagimoto M, Chiba S, Fukuda K, Ieda M: Direct reprogramming improves cardiac function and reverses fibrosis in chronic myocardial infarction. <i>Circulation</i> 147: 223-238, 2023. *Equal contributors. 査読有.
8	Kurotsu S*, Sadahiro T* , Harada I, Ieda M: A biomimetic hydrogel culture system to facilitate cardiac reprogramming. <i>STAR Protoc</i> 2022; 3: 101122. *Equal contributors. Corresponding author. 査読有.
9	Sadahiro T , Ieda M: In vivo reprogramming as a new approach to cardiac regenerative therapy. <i>Semin Cell Dev Biol</i> 122: 21-27, 2022. 査読有.

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
1	2023.12.15	第 97 回日本薬理学会年会、貞廣威太郎、Single-cell analysis elucidates the mechanism underlying heart regeneration by in vivo direct cardiac reprogramming
2	2023.12.9	CVMW2023 心血管代謝週間、貞廣威太郎、Direct reprogramming for Cardiac Regeneration
3	2023.11.5	日本再生医療学会第 3 回科学シンポジウム、貞廣威太郎、心筋ダイレクトリプログラミング～心臓を修復する遺伝子治療の開発を目指して～
4	2023.10.7	第 27 回日本心不全学会学術集会、貞廣威太郎、ダイレクトリプログラミングによる心臓再生医療の進歩
5	2023.9.2	CVIC2023 第 1 回研究発表会、貞廣威太郎、心筋リプログラミングによる革新的心不全治療法の開発
6	2022.9.24	第 70 回日本心臓病学会学術集会、貞廣威太郎、心筋直接リプログラミング線維芽細胞を心筋細胞へと転換させる心臓再生医療の課題と挑戦
7	2022.7.30	第 22 回関東心血管フォーラム、貞廣威太郎、直接リプログラミングによる心臓再生と、再生機構の解明
8	2022.3.17	第 21 回日本再生医療学会総会、貞廣威太郎・家田真樹、心筋ダイレクトリプログラミングによる心筋再生を目指して
9	2022.3.11	第 86 回日本循環器学会学術集会、Taketaro Sadahiro, In Vivo Cardiac Reprogramming Reverses Fibrosis in Chronic Myocardial Infarction via Reduction of Profibrotic Matrifibrocytes.
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	投稿中	Circulation