

## 第 10 回万有医学奨励賞 – 生活習慣病領域 – 研究成果報告書（追加助成） <概要>

<b>所 属</b>	慶應義塾大学医学部 心臓病未来治療学共同研究講座
<b>氏 名</b>	橋本 寿之
<b>研究テーマ</b>	オルガノイド形成に向けた心臓刺激伝導系転写制御機構の解明

- 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)

### 【研究目的】

心疾患における致命的な不整脈は刺激伝導系特殊心筋細胞のような希少な細胞集団にも起源が報告されているが、現状ではこれら特殊心筋形成における転写ネットワークは不明な点が多く、特殊心筋が心疾患の病態にどのように寄与するかは十分に解析できていない。本研究では心筋リプログラミングと心臓発生過程のエピゲノムの共通点に着目し、心筋リプログラミング法を利用して心室刺激伝導系の特殊心筋細胞を誘導する新たな転写因子を同定する事を目的とする。そしてその転写因子を利用して多能性幹細胞から特殊心筋細胞を効率的に分化誘導する技術の開発を目指す。

### 【研究手法と成果】

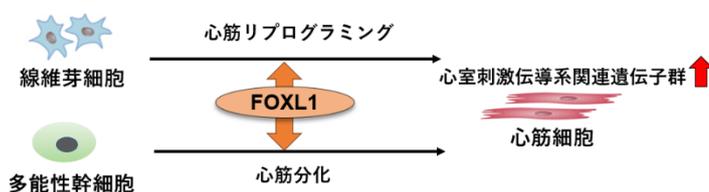
我々はマウス線維芽細胞に対して、先行研究においてリプログラミング効率を増幅した約 30 個の転写因子を一つずつ心筋リプログラミング 5 因子(Akt1, Gata4, Hand2, Mef2c, Tbx5) に追加し、その遺伝子発現変動を解析した。その結果、心室刺激伝導系のマーカーである Cntn2 と Myl2 の発現を強く誘導する転写因子 FOXL1 を同定した。

次に、心筋リプログラミング 5F に FOXL1 を加えた iCM のトランスクリプトーム解析を行った。その結果、FOXL1 は刺激伝導系に関連する遺伝子群、特に心室の刺激伝導系に発現が豊富な Cntn2、Scn5a、Gja5 等の発現を強く誘導することが判明した。また、ChIP-seq 解析を行うと、FOXL1 は心室刺激伝導系遺伝子群、特に突然死や不整脈に関連する遺伝子群の近傍のエンハンサーを活性化することが明らかになった。また、FOXL1 の結合領域に転写因子 Hand の結合モチーフである E-box 配列が豊富に存在し、心筋リプログラミング因子と共免疫沈降を行った結果でも FOXL1 は Hand2 と相互作用する事が示唆された。以上より、我々はマルチオミクス解析を用いて FOXL1 が心筋リプログラミング中に心室刺激伝導系に関連した転写ネットワークを直接活性化することを明らかにした。

我々は FOXL1 が生理的な心筋分化過程において刺激伝導系遺伝子群を誘導するかを検証するために Tet-On 発現誘導システムを用いて FOXL1 発現誘導マウス ES 細胞ラインを樹立した。そして Hand2 との相互作用の関係から、心筋分化過程の中胚葉期に FOXL1 の発現を誘導した結果、刺激伝導系関連遺伝子の発現が上昇し、活動電位計測値からも刺激伝導系心筋細胞の表現型として矛盾しないデータが得られた。一方、我々は Foxl1\_KO マウスを作製したが、成獣マウスの心臓は組織学的にも機能的にも野生型と比較して有意な差は観察されず、Foxl1 はマウスの心臓発生、成熟には必須の遺伝子でないことが明らかとなった。

本研究では FOXL1 により刺激伝導系遺伝子群を誘導する事に成功し(図)。本研究の成果により心筋リプログラミングは心疾患の新たな治療法の候補としてのみならず、心臓形成の新知見を得るための新たな *in vitro* ツールとしても発生学及び再生医学の分野に貢献できることを立証できた。

図 本研究成果の概略図



**第 10 回万有医学奨励賞 – 生活習慣病領域 –**  
**研究成果報告書（追加助成） <発表実績/予定一覧>**

<b>所</b>	<b>属</b>	慶應義塾大学医学部 心臓病未来治療学共同研究講座
<b>氏</b>	<b>名</b>	オルガノイド形成に向けた心臓刺激伝導系転写制御機構の解明

<b>1. 論文発表実績</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>● 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。</li> <li>● 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。</li> <li>● 論文の PDF を添付すること。</li> <li>● 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。</li> <li>● 国内外雑誌を問わない。</li> <li>● 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。</li> <li>● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>
1	該当なし
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	

**2. 学会発表実績**

- 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。
- アブストラクト、プログラム等の PDF を添付すること。
- 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年12月	「Discovering a Novel Cardiogenic Network through Direct Cardiac Reprogramming」BCVR2023 神戸 口頭発表 橋本寿之
2	2022年7月	「Cardiac Reprogramming Inducer ZNF281 is Indispensable for Heart Development by Interacting with Key Cardiac Transcriptional Factors」Basic Cardiovascular Sciences Scientific Session, Chicago, USA (July 2022) Oral, Hisayuki Hashimoto, et al.
3		
4		
5		
6		

**3. 投稿、発表予定（投稿中の論文も含める）**

	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2024年3月	「Cardiac Reprogramming Inducer ZNF281 Orchestrates the Cardiac Lineage Network during Heart Development」 第88回日本循環器学会学術集会 神戸 口頭発表 橋本寿之
2		
3		
4		
5		
6		