

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	村 岡 直 人
主 論 文 題 名				
MiR-133 promotes cardiac reprogramming by directly repressing Snail and silencing fibroblast signatures (MiR-133はSnailの発現抑制及び線維芽細胞特性の消失により心筋誘導を促進する)				
(内容の要旨)				
<p>心筋細胞は終末分化細胞であるため再生することができない。このため心臓は一度障害を受けると線維芽細胞に置換され、心機能は低下する。iPS細胞を初めとした幹細胞は心筋再生の細胞源として期待されているが、その使用には分化誘導効率、腫瘍形成の可能性、移植細胞の生着率などの問題がある。心臓に内在する線維芽細胞を直接その場で高率に心筋に転換できればこれらの問題を解決できる。これまでに、マウス心臓線維芽細胞に3つの心筋特異的転写因子 (Gata4, Mef2c, Tbx5: GMT) を導入し、心筋様細胞への直接誘導にin vitro及びin vivoで成功した。さらに5つの心筋誘導因子 (GMT, Mesp1, Myocd: GMTMM) によるヒト心臓線維芽細胞からの心筋直接誘導も報告し、臨床応用に向けて着実に研究を進めてきた。しかし、誘導効率は未だ十分ではなく、また心筋直接誘導の分子基盤はこれまで不明であった。</p> <p>本研究ではマウス及びヒト線維芽細胞に、心筋誘導遺伝子とmicroRNA (miRNA) を同時に遺伝子導入することで心筋様細胞を短期間でより効率的に直接作製できる方法を確立するとともに、その分子基盤を一部解明した。最初にマウス線維芽細胞に筋特異的なmiRNAのみを導入したが、心筋誘導は認められなかった。そこでGMTに加えて各種miRNAを同時に導入したところ、miR-133を加えることで従来のGMTのみと比較し、短期間で効率的に心筋誘導できることを見出した。具体的には、miR-133を加えることでGMTのみと比較し、心筋細胞の特徴である自律性拍動の開始が遺伝子導入後30日から10日に短縮し、また拍動細胞数は約7倍に増加した。</p> <p>次にmiR-133による効率的な心筋誘導の機序を解析した。GMTのみで作製した心筋様細胞とmiR-133を加えて作製した細胞の遺伝子発現を比較したところ、miR-133により線維芽細胞関連遺伝子が心筋誘導早期から広範に抑制されていた。miR-133が直接抑制する標的候補遺伝子を探索したところ、上皮間葉移行のマスター因子であるSnailがmiR-133の新規標的遺伝子であることを発見した。さらに、心筋誘導の際にSnailを過剰発現すると線維芽細胞の表現型が維持されて誘導が抑制されること、逆にSnailを抑制すると誘導が促進されることから、線維芽細胞におけるSnailの高発現が心筋様細胞誘導を阻害しており、心筋誘導因子やmiR-133がSnailの発現を抑制して線維芽細胞の特性を消すことにより心筋誘導を促進することを明らかとした。また、ヒト心臓線維芽細胞においても、GMTMMにmiR-133を加えることで誘導効率が約10倍に改善し、さらにmiR-133によるSnailの抑制と線維芽細胞の特性消失が心筋誘導促進に重要な役割を果たすことを示した。</p> <p>以上より、心筋誘導遺伝子にmiR-133を加えることでマウス及びヒト線維芽細胞から短期間で効率的に心筋様細胞を直接作製することに成功し、さらには未知であった心筋直接誘導の分子基盤を世界で初めて明らかにした。Snailという阻害因子及び線維芽細胞の特性を抑えることで心筋誘導を促進するという分子基盤は、他の細胞種作製にも共通する可能性があり、再生医療全体への大きな波及効果が期待できる。</p>				