

## 論文審査の要旨及び担当者

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	宮 本 和 享
論文審査担当者	主 査	内科学	福 田 恵 一	
	生理学	岡 野 栄 之	分子生物学	塩 見 春 彦
	外科学	志 水 秀 行		
学力確認担当者：			審査委員長：岡野 栄之	
			試問日：平成30年 7月30日	
(論文審査の要旨)				
論文題名：Direct <i>In Vivo</i> Reprogramming with Sendai Virus Vectors Improves Cardiac Function after Myocardial Infarction (センダイウイルスベクターを用いた生体内心筋リプログラミングにより心筋梗塞後の心臓機能が改善する)				
<p>これまでにマウスおよびヒト線維芽細胞から直接心筋細胞を作製する方法の報告はあるが、ベクターとしてレトロウイルスを用いていたために宿主遺伝子を改変するリスクや心筋誘導効率が低いなどの課題が残されていた。本研究では、宿主遺伝子を改変しない心筋誘導センダイウイルスベクターを新たに開発し、それを用いて心筋の直接誘導を試みた。</p> <p>審査では、まずセンダイウイルスベクターを用いてこれまでと同様の心筋特異的転写因子を導入することで誘導効率が改善した機序について問われた。本実験において、センダイウイルスを用いて心筋特異的転写因子を遺伝子導入すると、レトロウイルスを用いる場合と比べその発現量は有意に高いことを蛋白質およびmRNAレベルにて確認しており、それによって効率が改善したと回答した。次に、<i>in vivo</i>での遺伝子導入後に認められた心収縮能の改善の機序について問われた。遺伝子導入後の免疫染色において、心筋特異的遺伝子を発現する心筋細胞が誘導されており、また同時に組織の線維化が抑制されていた。これより、誘導心筋細胞が作製されたことに加え、心筋の線維化が抑制されたことにより心機能を改善したのではないかと回答した。さらに、<i>in vivo</i>においてはどのような細胞に遺伝子導入されやすい傾向にあるのかと問われた。心筋梗塞モデルマウスでの実験において、心筋梗塞境界部の線維芽細胞に優位に遺伝子導入されていることを確認したと回答した。また、センダイウイルスを用いて心筋誘導を行う場合に必要な導入遺伝子の発現期間について質問された。ウエスタンブロット解析において、心筋特異的転写因子の発現は1週間程度で消失したと回答した。続いて、線維芽細胞に遺伝子導入した場合、作製された誘導心筋細胞での線維化遺伝子の変化について問われた。誘導心筋細胞において線維化に関連する遺伝子の発現は低下しており、<i>in vivo</i>において遺伝子導入した場合、線維芽細胞の増殖が優位に抑制されていたことをqPCR及び免疫染色において確認したと回答した。最後に、<i>in vitro</i>において誘導された心筋細胞の電気生理学的な解析では心房、洞結節、心室細胞類似の心筋細胞が作製されたが、各々の起源細胞は異なるのかについて、また各心筋細胞を選択的に誘導することが出来るか問われた。現時点では、誘導心筋細胞のタイプごとの起源細胞の多様性は不明であり、それぞれの心筋細胞を狙って選択的に誘導することは出来ていないが、臨床応用に向けての課題であり今後も検討を続けてゆきたいと回答した。</p> <p>以上、本研究では克服すべきいくつかの課題を残しているものの、センダイウイルスを用いて心筋特異的転写因子を遺伝子導入することで細胞のゲノムを損傷することなく、効率よく短期間に心筋を心臓内で直接誘導する心筋再生法の確立に世界で初めて成功した点において有意義な研究であると評価された。</p>				