

Title	Transient inhibition of BMP signaling by Noggin induces cardiomyocyte differentiation of mouse embryonic stem cells
Sub Title	ノギンによるBMPシグナルの一過性の抑制はマウス胚性幹細胞を心筋細胞に分化させる
Author	湯浅, 慎介 (Yuasa, Shinsuke)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.4 (2005. 12) ,p.7-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0007

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Transient inhibition of BMP signaling by Noggin induces cardiomyocyte differentiation of mouse embryonic stem cells

(ノギンによるBMPシグナルの一過性の抑制はマウス胚性幹細胞を心筋細胞に分化させる)

湯 浅 慎 介

内容の要旨

胚性幹細胞は心筋細胞に分化しうる魅力的な幹細胞である。胚性幹細胞より心筋細胞を分化誘導する方法は現在まで様々なものが報告されているが、そのどれも満足のいくものではない。胚性幹細胞の分化は正常の発生を模倣していると言われているが、心臓発生に必要とされている因子を加えただけでは高率には分化しえないと言われている。心筋細胞の発生は全身の臓器の中でも最も早期、すなわち原腸陥入が始まり三胚葉が形成され始めるマウスの胎生7.0日目に始まる。心筋細胞の初期発生における重要な因子は過去に様々なものが報告されており、BMP (Bone morphogenetic protein), Wnt, FGF (Fibroblast growth factor), IGF-1 (Insulin like growth factor-1) などがあるが、これらを胚性幹細胞に添加しても、心筋細胞への分化誘導効率の向上を確認しえなかった。さらに心筋細胞発生に最も重要な因子と考えられているBMPを添加した際には心筋細胞への分化誘導効率が若干低下することが確認された。我々はまず心筋細胞の発生過程を見直す必要があると考え、過去に報告されている因子とは別の様々な因子の発現状態を調べることとした。この結果、心筋細胞の発生領域においてBMP antagonistのNogginが一過性であるが非常に強く発現していることが分かった。これは心筋細胞の発生自体にBMPを阻害するNogginが必要であるが、発生後の心筋細胞の成熟と維持にはNogginの存在は不都合であると考えられる。心筋予定領域の発生過程におけるNogginの発現状況を参考に、胚性幹細胞から心筋(前駆)細胞への分化誘導条件について種々検討を重ねた結果、培養時の初期にNogginを添加することにより、自律拍動能を有する心筋細胞が、選択的かつ高率に産生されることを見いだした。過去のBMP signalの心筋細胞発生における重要性の検討から、当初NogginはBMP signalをブロックする以外の機能があるのではないかと考えた。しかしながら、胚性幹細胞の分化過程ではNoggin存在下においてBMPを添加すると心筋細胞の発生は著明に抑制され、またNoggin以外のBMPをブロックする物質(Chordin, soluble BMP receptor)を胚性幹細胞に添加した際にもNogginと同様に心筋細胞を高率に分化誘導し得ることが分かった。これより、Nogginによる心筋発生促進作用はBMPを阻害することによると考えられた。また、免疫染色、RT-PCR、Western blot等の手法を用い、本方法により胚性幹細胞から作製された拍動性細胞は、典型的な心筋細胞の特徴を有する細胞であることが確認された。これらの結果より、胚性幹細胞を用いた心筋再生療法が躍進的に進歩することが期待される。

論文審査の要旨

胚性幹細胞(ES細胞)は高い増殖能と分化能から再生医学領域で高く注目されている。ヒトES細胞を用いた心筋再生療法を実現するには有効な分化誘導法の確立が急務である。ES細胞分化は発生を模倣しているが、発生に必要な因子を加えただけでは高率には分化しない。心筋発生に重要な因子として、BMP (Bone morphogenetic protein) などがあるが、それらを添加しても心筋細胞への分化誘導効率の向上を確認されず、BMPを添加した際にはむしろ低下することが確認された。そこで心筋細胞の発生過程を見直したところ、心筋細胞の発生領域においてBMP antagonistのNogginが発現していることが判明した。Nogginの発現状況を参考に分化誘導条件の検討結果から、培養時の初期にNogginを添加することにより、心筋細胞が選択的かつ高率に産生されることを見いだした。さらにNoggin以外のBMPをブロックする物質をES細胞に添加した際にも心筋細胞を高率に分化誘導しうることを明らかにした。

審査では、まずBMPおよびNogginの発生学的な意味づけについて質問がなされた。BMPは心筋細胞の発生において必須であるとされているが、BMPは心筋細胞発生初期においては発生を抑制している可能性が示されており、主に発生した心筋細胞の維持に作用していると考えられている。未分化な細胞から心筋細胞へ分化する初期にのみNogginが作用し、以降は心筋細胞を維持するという点でBMPが作用していると予測されると回答された。

Noggin処理によりBrachyury陽性細胞が得られ心筋細胞分化に貢献するとのことだが、他の系譜への分化について質問がなされた。BrachyuryはES細胞から血球へ分化する際のマーカーとして重要であるとの報告がされているが、血球や血管などのマーカーの向上は確認し得ず心筋細胞へ分化する傾向があることを確認したと回答された。細胞あたりのBrachyury RNA量がコントロールに比べNoggin処理により数倍以上多く、性質が違ふことが予測されるという回答がなされた。BrachyuryやFli1などのマーカーをもとにFACSを用いてprospectiveな検討をするべきであるとの助言がなされた。

最後に、ヒトES細胞における心筋再生療法の開発に関し、本法の位置づけはとの質問がなされた。ヒトES細胞は倫理的な問題もあり、どこでも研究できるというわけではないが、過去の報告から推測するとマウスES細胞と類似点と相違点がある。すなわち、本法をそのままヒトES細胞に適用するのではなく、さらに工夫していく必要があると思われると回答された。

以上のように本研究は、今後検討されるべき課題を残しているものの、ES細胞より心筋細胞への分化誘導方法を確立したという点において有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 小川 聡
外科学 四津 良平 発生・分化生物学 須田 年生
解剖学 仲嶋 一範

学力確認担当者：
審査委員長：四津 良平

試問日：平成17年 8月 1日