

主 論 文 要 旨

報告番号

① 乙 第

号

氏 名

橋 本 寿 之

主 論 文 題 名

Time-lapse imaging of cell cycle dynamics during development in living cardiomyocyte
(タイムラプスイメージングを利用した心筋細胞の細胞周期動態解析)

(内容の要旨)

終末分化した心筋細胞はほとんど細胞分裂しないため、自己修復できないことが末期心不全の難治性を規定する大きな要因となる。心筋細胞を再び細胞分裂させ、組織を再生することができれば、末期心不全患者の根治的な治療法を確立することができる。そのためには、心筋細胞の増殖を調節している機構、つまりは心筋細胞周期の制御機構や動態を解析する必要がある。

細胞周期の制御機構は分子レベルでは解明されてきたが、特に心臓発生や再生の中で細胞周期の進行がどのような時間空間的パターンを示すかについての解析はあまり行われてこなかった。その要因は、現在の主な細胞周期の解析法が細胞の固定を必要とし、時間的な断片でしか細胞周期の観察が行えなかったためである。細胞周期解析にこのような技術的制限がある中、我々は細胞周期を蛍光タンパク質によりリアルタイムで可視化するイメージング技術Fucci (Fluorescent ubiquitination-based cell cycle indicator) に着目し、これを利用して心筋細胞の細胞周期動態解析の研究を行った。

我々はまず、Fucciプローブを恒常的に発現するトランスジェニックマウスの心臓の固定切片において、胎仔期から成獣期までの心筋細胞の静的な細胞周期を解析した。その結果、S/G₂/M期心筋細胞の割合は胎仔期より経時的に減少し、出生後に速やかに低下し、成獣期においてはほとんど観察されなかった。この結果は既存の細胞周期解析法による報告と相関しており、Fucciのシステムがマウス心筋細胞において細胞周期を可視化できることが確認された。次に、Fucciを用いて心筋細胞の動的な細胞周期解析を行うために、我々はマウス心臓におけるex vivoライブイメージング法のシステムを構築した。細胞周期解析試薬であるEdU (5-ethynyl-2'-deoxyuridine) を利用し、酸素濃度、血清濃度の条件を検討した結果、24時間培養したex vivo培養心筋細胞とin vivo心筋細胞におけるEdU陽性心筋細胞の割合は同等であることが確認された。

次に、我々はFucciトランスジェニックマウスの心臓のex vivo ライブイメージングを行った。マウス心筋細胞のS/G₂/M期の時間が胎仔期において成長とともに延長する傾向にあることが明らかとなった。細胞周期が進行していても、細胞周期の長さが異なれば細胞が増殖する速さも異なる。今後は心筋細胞増殖を評価する際には細胞周期の長さも考慮する必要があることが示された。

以上より、本研究は、Fucciシステムを用いることにより時間的な断片でしか細胞周期の観察が行えなかった従来の研究とは全く異なり、生きている心筋細胞における細胞周期進行の時間空間的パターンを観察できることを示すことができた。