# 要　　約

| 報告番号 | ㊙ 乙 第　　号 | 氏　名 | 山　川　裕　之 |
|---|---|---|---|

**主 論 文 題 名**

Fibroblast Growth Factors and Vascular Endothelial Growth Factor Promote Cardiac Reprogramming under Defined Conditions
（線維芽細胞増殖因子と血管内皮細胞増殖因子により心筋直接誘導を促進する）

**（内 容 の 要 旨）**


近年、iPS細胞を介さずに様々な細胞が誘導され、新たな再生医療の細胞源として注目されている。その中でiPS細胞を介されず心筋様細胞（induced cardiomyocytes；以降iCM細胞と略す）が、Gata4、Mef2c、Tbx5を初めとした心臓特異的な転写因子群、もしくはmicro-RNA群を線維芽細胞に導入することで、誘導されることが報告された。当初の方法では遺伝子導入から、約4週間かけて自律拍動能を有するiCM細胞へ誘導されるが、その誘導効率は0.1～1%程度であり、臨床応用を考えるには十分な細胞数を得ることは難しかった。

今までのES/iPS細胞からの心筋分化誘導研究において、様々な化学合成物を培地に添加することで、心筋分化を促進することが知られている。我々はiCM細胞へ誘導する時に特定の化合物を、適切な時期に添加することで、iCM細胞を効率的に得ることが可能ではないかとの仮説をたてた。そこでiCM細胞を誘導する時に、ES/iPS細胞からの心筋誘導に必要な化学合成物質を添加することにより、自律拍動を有するiCM細胞数のスクリーニングを行った。

その結果、無血清培地にFGF2/FGF10/VEGFを、3週間目から添加することで、血清培地と比較して約50～100倍の自律拍動を有するiCM細胞を得ることに成功した。DNAアレイ解析にて、FGF2/FGF10/VEGFを添加した培地では、Gata6、Hand2、Nkx2-5の発現が亢進しており、イオンチャネル発現やカルシウム・ホメオスタシス関連遺伝子などの発現が増強しており、この培養条件によりiCM細胞が効率的に誘導されることが分かった。さらに、FGF2/FGF10/VEGFを添加した無血清培地では、Gata4遺伝子の導入を必要とせず、2つの転写制御因子Mef2c、Tbx5だけで拍動を有するiCM細胞をリプログラムすることが可能であった。この2因子のみで作出したiCM細胞のアレイ解析でも、我々が発見した培養条件では、Hand2、Nkx2-5が強発現することに加え、Gata4も強発現していた。

以上より、私は FGF2/FGF10/VEGFを添加した無血清培地が、iCM細胞の誘導を効率的かつ強力に促進することを見出した。よって、本研究はiCM細胞の分化誘導効率を著しく向上させた点、遺伝子導入する因子を減らせることが出来た点においいて有意義なものと考えられた。