

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	宮 本 和 享
主 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)				
(内容の要旨) 心筋細胞は終末分化した細胞であり再生能力を有しない。このため、心筋梗塞等により障害を受けると心臓線維芽細胞の増殖・瘢痕化が起こり、心不全に至る。心不全の増加は現在大きな社会問題となっている。これまでに家田らは新しい心臓再生療法として、線維芽細胞に心筋細胞特異的な3つの転写因子 (Gata4, Mef2c, Tbx5) を遺伝子導入することで、iPS細胞を経由せず直接心筋細胞を作製することに成功した (Cell, 2010)。しかし、これまでの方法ではウイルスベクターとしてレトロウイルスを用いており、宿主遺伝子損傷のリスクや心筋リプログラミング効率が低いなどの課題があった。 本研究では、宿主遺伝子を改変しないセンダイウイルスベクターを用いて心筋誘導する方法を新たに開発した。従来のレトロウイルスベクターでは、培養皿上で拍動する心筋細胞の作製効率は約0.1%で、作製までに約1か月を要した。一方、センダイウイルスベクターによる新しい方法では、心筋作製効率は約10%と従来法の100倍に改善した。さらに、拍動する心筋細胞を約10日間で作製することに成功した。またセンダイウイルスベクターを用いることで、細胞のゲノム内に心筋誘導遺伝子が挿入されず、ゲノムの損傷がないことも確認した。さらにヒト心臓線維芽細胞でも約15%の効率で直接的に心筋細胞を作製することに成功した。 次に生体内での心筋誘導を比較検討した。冠動脈を結紮することでマウス心筋梗塞モデルを作製し、3つの転写因子 (Gata4, Mef2c, Tbx5) をレトロウイルスベクターあるいはセンダイウイルスベクターを用いてマウス心筋梗塞巣に直接注入した。1週後のマウス生体内での心筋誘導効率は、レトロウイルスベクターでは約0.5%と低値であり、誘導した心筋細胞も未熟型だったが、センダイウイルスベクターでは心筋誘導効率が約1.5%に上昇し、成熟した心筋細胞作製に成功した。1か月後の生体内での心筋誘導効率はレトロウイルスベクターで約1%であるのに対して、センダイウイルスベクターでは約5%まで改善した。さらに、センダイウイルスベクターによる治療群では、無治療群と比較して、1か月後の左室駆出率が改善し、心筋梗塞後の線維化組織が約30%に縮小した。 これまでのレトロウイルスあるいはレンチウイルスベクターでは心筋誘導効率が低く、遺伝子挿入変異リスクがあり臨床応用は困難であった。本研究においてセンダイウイルスベクターを用いて心筋誘導遺伝子を導入し、マウスおよびヒト線維芽細胞から安全かつ効率的に心筋細胞を直接作製することに成功した。またマウス生体内においてもセンダイウイルスベクターにより効率的な心筋誘導に成功し、心筋梗塞後の心機能改善と線維化縮小を確認した。 以上より、本研究において世界で初めてゲノムを損傷することなく、効率よく短期間で、生体内で心筋直接誘導および心臓再生に成功した。本研究成果は細胞移植を必要としない、新しい心臓再生医療実現を前進させる大きな一歩であると考えられた。				