

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	貞 廣 威 太 郎
主 論 文 題 名				
Tbx6 Induces Nascent Mesoderm from Pluripotent Stem Cells and Temporally Controls Cardiac versus Somite Lineage Diversification (Tbx6は多能性幹細胞から中胚葉を誘導し、心血管系と筋骨格系への分化を制御する)				
(内 容 の 要 旨)				
<p>近年、多能性幹細胞から分化させた種々の細胞を用いた再生医療が注目されているが、その臓器へと選択的に分化させる誘導法は、発生学の知見を応用している。中胚葉への誘導ではBMP、Nodal/Activin、Wntシグナルが重要であり、これらの発現量や発現時期に基づいて多能性幹細胞は、その分化の方向性を決定する。しかし、標的因子など分子生物学的機序に関しては、未だ不明な点が多い。さらに多能性幹細胞から目的の中胚葉細胞を誘導するためにはBMPなどの高価な液性因子や、低分子化合物を用いる煩雑な誘導法が必要であり、遺伝子発現を制御するだけで中胚葉誘導が可能となるような分化制御遺伝子の存在は不明である。本研究では、液性因子に頼らず、単一遺伝子によって多能性幹細胞から選択的な心臓中胚葉・心筋細胞への誘導が実現すれば、安定かつ簡便、さらに安価に心筋作製が可能となり、心臓再生医療の飛躍的な前進が期待されると考え、幹細胞からの心臓中胚葉誘導の新規制御因子を同定し、その分子機構を解明することを試みた。</p> <p>線維芽細胞にレトロウイルスベクターを用いて種々の転写因子を遺伝子導入し、心臓中胚葉細胞を作製するダイレクトリプログラミング法を応用し因子のスクリーニングを行った。その結果、これまで心臓発生との関係が明らかでなかったTbx6という転写因子が、線維芽細胞から心臓中胚葉の特徴をもった細胞を直接誘導することを発見した。マウス胎仔のシングルセルRNA-Seqの解析では、Tbx6がマウス初期中胚葉に発現することを明らかにし、Tbx6発現細胞が初期中胚葉遺伝子だけでなく、心臓中胚葉やより心臓にむけて分化した初期心臓前駆細胞遺伝子を発現していることを解明した。心臓発生との関連が明らかとなったTbx6に関して更なる検討のため、マウスES細胞から心筋細胞への分化誘導における発現を解析したところ、CRISPR-Cas9を用いてTbx6をノックアウトしたES細胞で中胚葉・心臓中胚葉誘導が抑制され、心筋誘導効率は1/3程度に著明に抑制された。以上の結果から、多能性幹細胞からの心筋分化誘導過程においてもTbx6が中胚葉に発現し、以降の心筋分化に重要な役割をもつことが明らかとなった。このTbx6をマウスES細胞・ヒトiPS細胞といった多能性幹細胞に遺伝子導入することで、多能性幹細胞から液性因子を使用せずに心臓中胚葉細胞を誘導することが可能となり、この細胞から心筋細胞を誘導することに成功した。さらにこの機序として、Tbx6が心臓発生に重要なMesp1・BMP4遺伝子に直接結合し遺伝子発現を誘導し、心臓発生には不要な遺伝子であるSox2とも直接結合し、その発現を抑制することを明らかにした。さらに、Tbx6が筋骨格系の原基である体節と関連があることから、Tbx6の発現期間を調節したところ、心臓中胚葉だけでなく骨格筋や軟骨細胞までもが誘導可能であることを見出した。</p> <p>以上より、転写因子Tbx6は多能性幹細胞から中胚葉を誘導し、心血管系および筋骨格系への分化を制御することが明らかとなった。</p>				