

# 主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	谷 英 典
<b>主 論 文 題 名</b>  Direct Reprogramming Improves Cardiac Function and Reverses Fibrosis in Chronic Myocardial Infarction (ダイレクトリプログラミングは慢性心筋梗塞における心機能低下及び線維化を改善する)				
<b>(内容の要旨)</b>  心臓特異的な転写因子を線維芽細胞に遺伝子導入し、心筋様細胞へと直接分化させる心筋ダイレクトリプログラミング法は未分化細胞を介さない新たな治療法として期待されている。急性心筋梗塞マウスを用いた生体内心筋ダイレクトリプログラミングは、梗塞領域を減少し、心機能を改善したが、線維化、瘢痕化が確立した慢性期での検討は報告がない。本研究では心筋梗塞慢性期における生体内心筋ダイレクトリプログラミングの効果を検証することを目的とした。 まず、心臓線維芽細胞でリプログラミング因子の発現制御が可能なトランスジェニックマウスを作製した。タモキシフェン誘導型のCre-loxpシステムを利用し、タモキシフェン投与によりTcf21を発現した心臓線維芽細胞に特異的にリプログラミング因子であるMef2c, Gata4, Tbx5, Hand2 (MGTH) と蛍光タンパク (tdTomato) を永続的に発現させるトリプルトランスジェニックマウス (TTg) を作製した。このマウスでは心筋梗塞や心不全で誘導されるTcf21陽性の病的な心臓線維芽細胞において任意の時期にリプログラミングを誘導し、その細胞をtdTomatoで標識することができる。心筋梗塞作製から1ヶ月経過した慢性期にリプログラミングを誘導したところ、TTg群では対照群と比較して心筋梗塞による線維化領域は縮小し、一度低下した心収縮能の有意な改善を認めた。リプログラミングの効果を遺伝子レベルで確認するため、DNAマイクロアレイによる解析で心臓全体の遺伝子発現を比較したところ、TTg群では線維化関連の遺伝子発現の有意な低下を認めた。さらに単一細胞RNA-seq解析で心臓間質細胞の比較を行うと、TTg群では心筋梗塞作製によって増加する線維芽細胞が減少し、その中でも線維促進性の活性化線維芽細胞の集団は減り、抗線維化性の不活発な線維芽細胞の集団が増えていることを確認した。また、tdTomatoで標識された線維芽細胞においても同様の遺伝子発現の変化が起きていることから、リプログラミングに寄与する細胞自律的な変化であることが確認できた。こうした抗線維化の機序を解明すべく、心不全進展における線維芽細胞の活性化を制御することが知られているMeox1の発現を見ると、心筋梗塞作製による増加がTTg群では抑制されていた。さらに、 <i>in vitro</i> でMeox1を強制発現するとMGTHによるリプログラミング効率は抑制され、その結果リプログラミングによる線維化抑制効果も減少することを確認し、心筋リプログラミングは少なくとも一部はMeox1の抑制を介した抗線維化作用を有することが示唆された。 以上の通り、本研究ではこれまでに証明されていなかった慢性期心筋梗塞におけるダイレクトリプログラミングの有効性を示すとともに、機序としてMeox1の抑制を介した抗線維化作用が重要であることが示された。				