

2015 年度修士論文要旨

## 心房・心室の心筋細胞への分化仕分け機構の解明

関西学院大学大学院理工学研究科

生命科学専攻 平井研究室 田川嵩

心房や心室を構成する心筋細胞は拍動のリズムや筋繊維タンパク質の発現が異なることが報告されている。現在、iPS/ES 細胞など未分化細胞から心筋細胞への分化誘導が可能となり、心臓の再生医療が現実を帯びてきた。しかし、実際に再生医療で使用するためには心房・心室の心筋細胞どちらかへの純化が必要となるが、これら分化誘導法では分化の仕分けは手付かずのままである。そこで、本研究ではモデル細胞としてマウス胚性癌細胞 P19CL6 を用い、心房・心室の心筋細胞への分化仕分け機構の解明を目指すことにした。心室心筋細胞への分化を簡便にモニターするために、心室特異的遺伝子 (*Mlc 2v*) のプロモーターの下流に GFP を連結した遺伝子を P19CL6 細胞に導入し (P19-GFP)、心室心筋細胞へ分化後、GFP 蛍光を発する細胞を作製した。P19-GFP と種々の細胞と共培養したところ、マウス胎児由来線維芽細胞と接した領域で強く GFP 蛍光を発することが分かった。また、マウス胎児由来の線維芽細胞株 10T1/2 を用いて、P19-GFP の GFP 蛍光を定量的に解析したところ、10T1/2 細胞の割合が増大するに従い、GFP 蛍光強度が上昇することが明らかになった。このことを踏まえ、胎児線維芽細胞表面に発現する分化誘導因子であるエピモルフィン (EPM) を心室心筋細胞への分化誘導因子の候補として着目した。細胞外に強制的に EPM を強制発現させたところ、心室分化の指標である GFP 蛍光の著しい増加と共に、心室心筋細胞関連因子の発現上昇が見られ、心房心筋細胞関連因子の発現抑制が見られた。また、その中でも特に心臓形成に重要な転写因子である Hand 1 の発現が顕著に抑制されていること

が分かった。そこで、P19-GFP 細胞中で Hand 1 を人工的にノックダウンさせたところ、EPM の刺激なしに関連因子が発現誘導されることが判明した。

以上のことから、細胞外 EPM は転写因子 Hand 1 の発現抑制を介して、心房心筋細胞への分化を抑制し、心室心筋細胞への分化を促進することが示された。