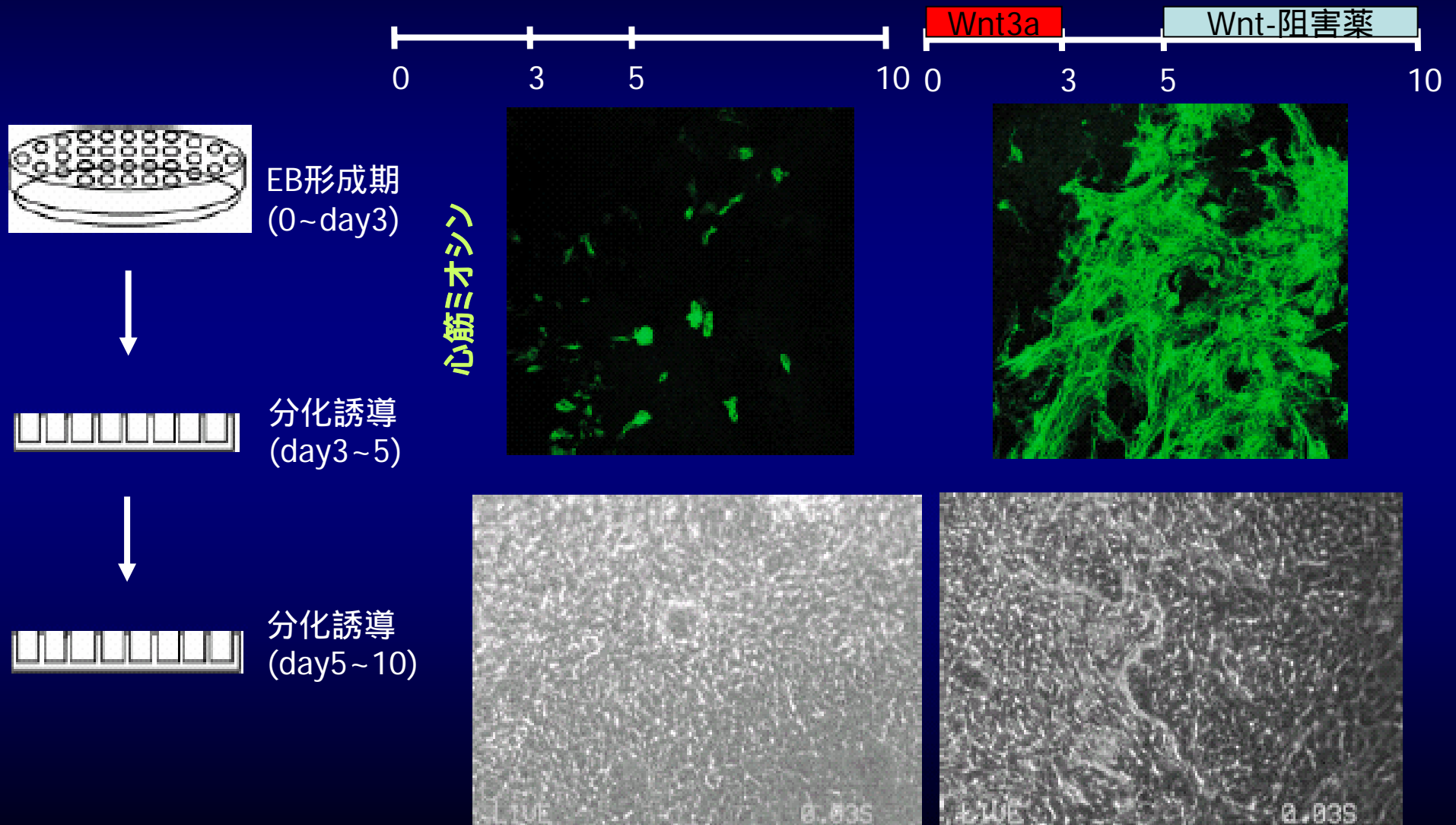


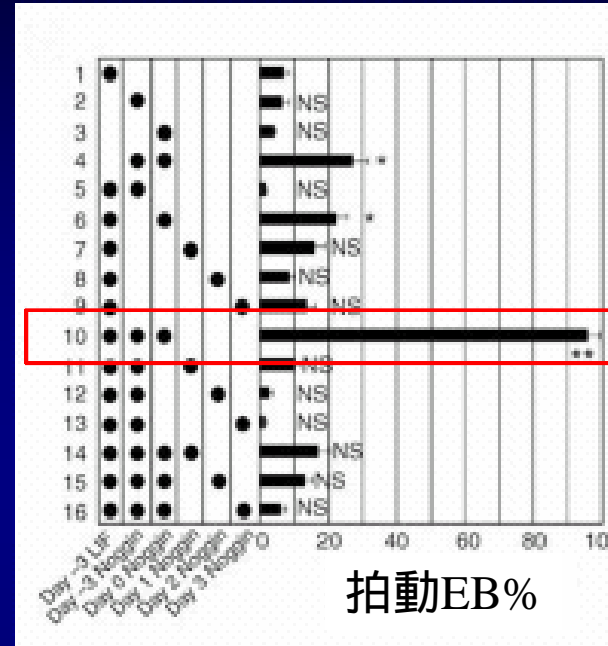
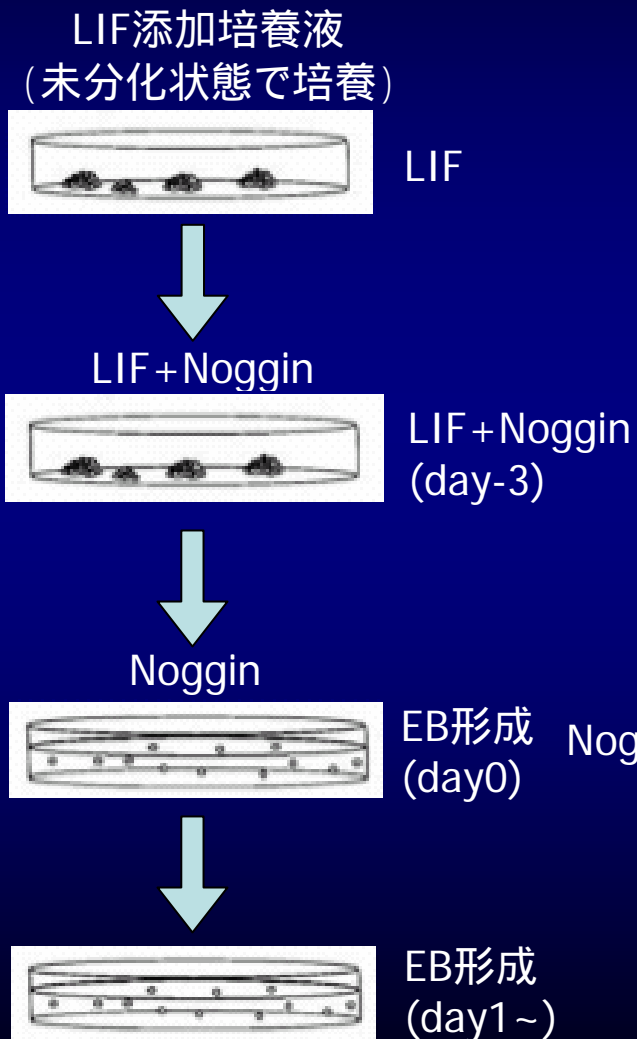
マウスES細胞からの新規心筋細胞分化誘導法の確立

ES細胞の効率的な心筋細胞分化誘導の標的分子 ~ Wnt蛋白

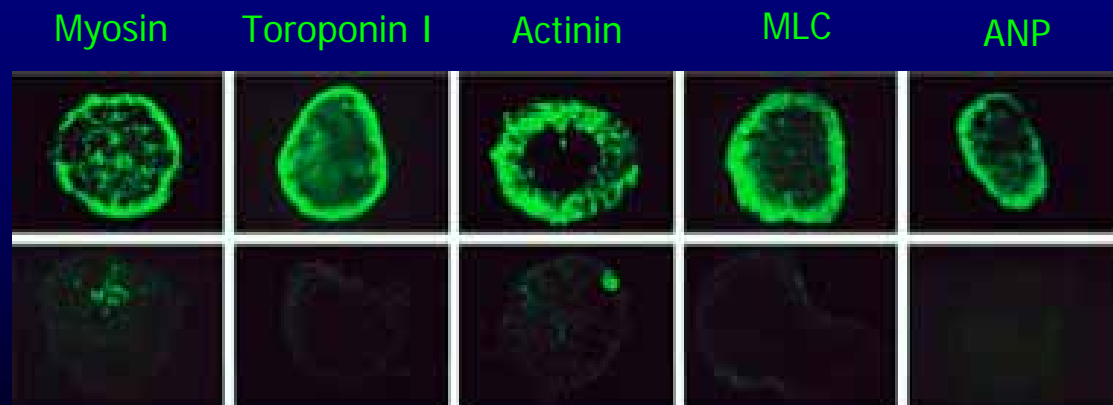


マウスES細胞からの新規心筋細胞分化誘導法の確立

ES細胞の効率的な心筋細胞分化誘導の標的分子 ~ **Noggin**



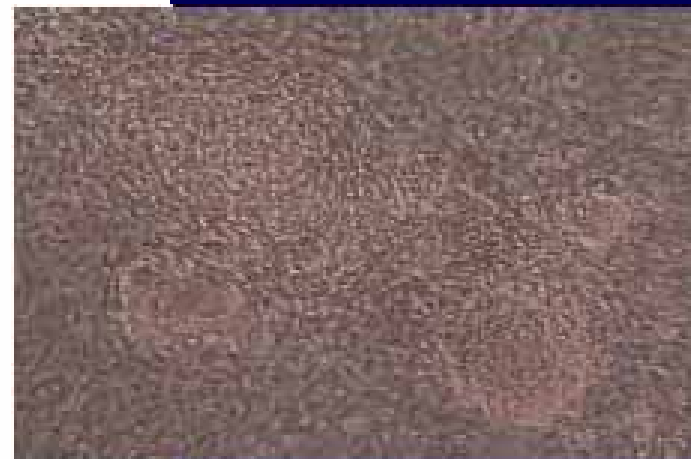
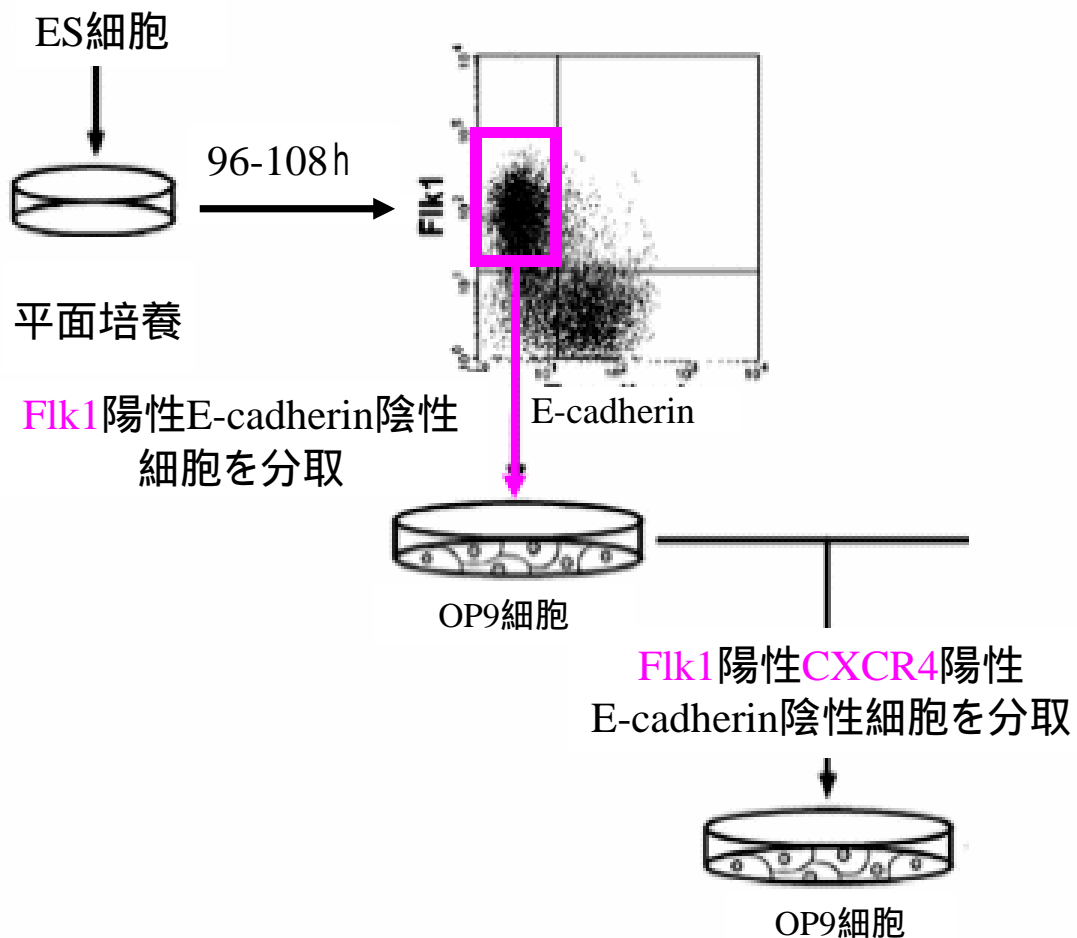
一過性にNogginを作用させることにより、ES細胞の心筋細胞への分化効率を上昇する。



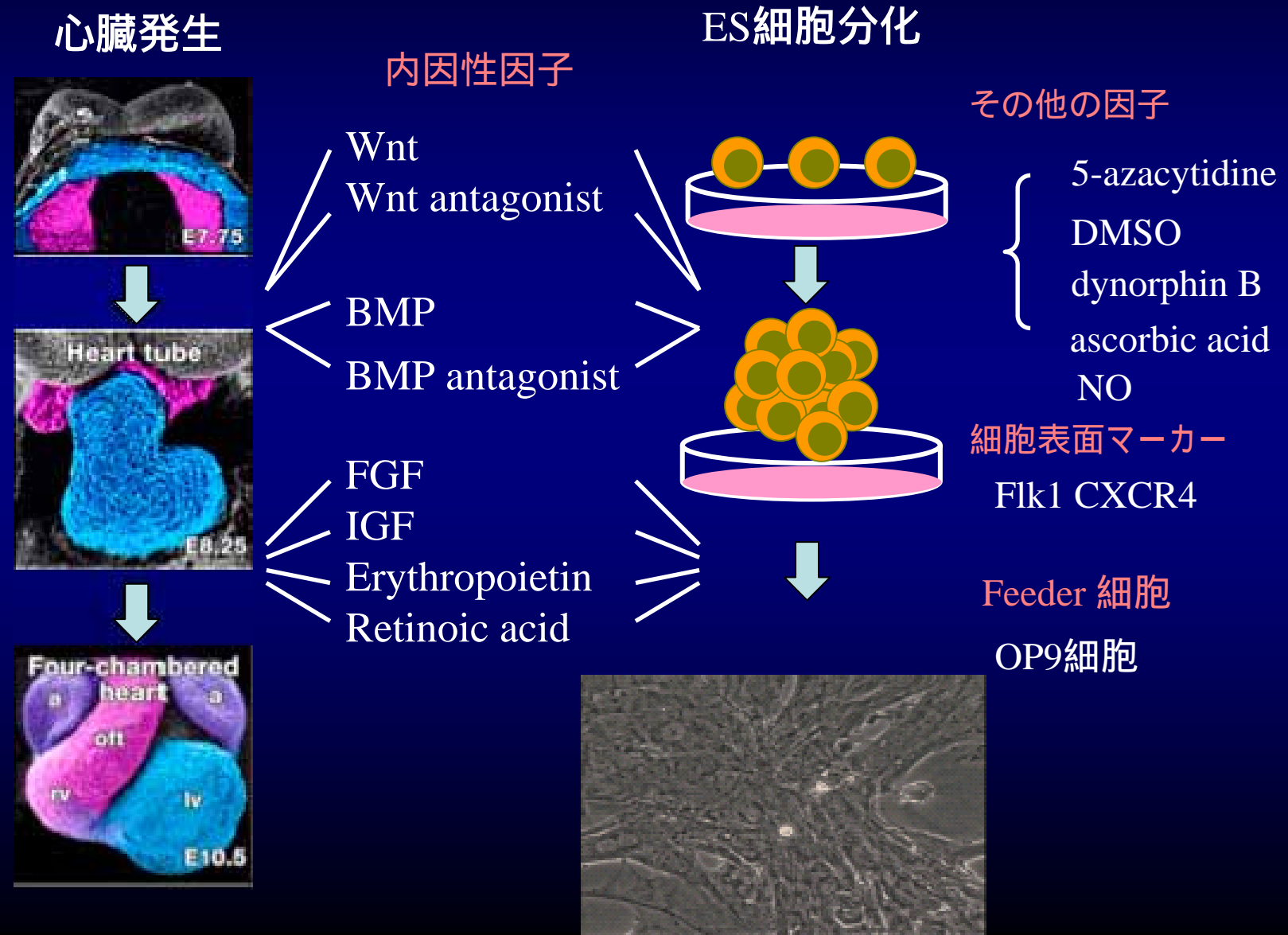
マウスES細胞から心筋細胞への効率よい分化誘導法

ES細胞由来心筋幹細胞の細胞表面分子 ~ Fik-1、CXCR4
分化誘導feeder layer細胞 ~ OP9

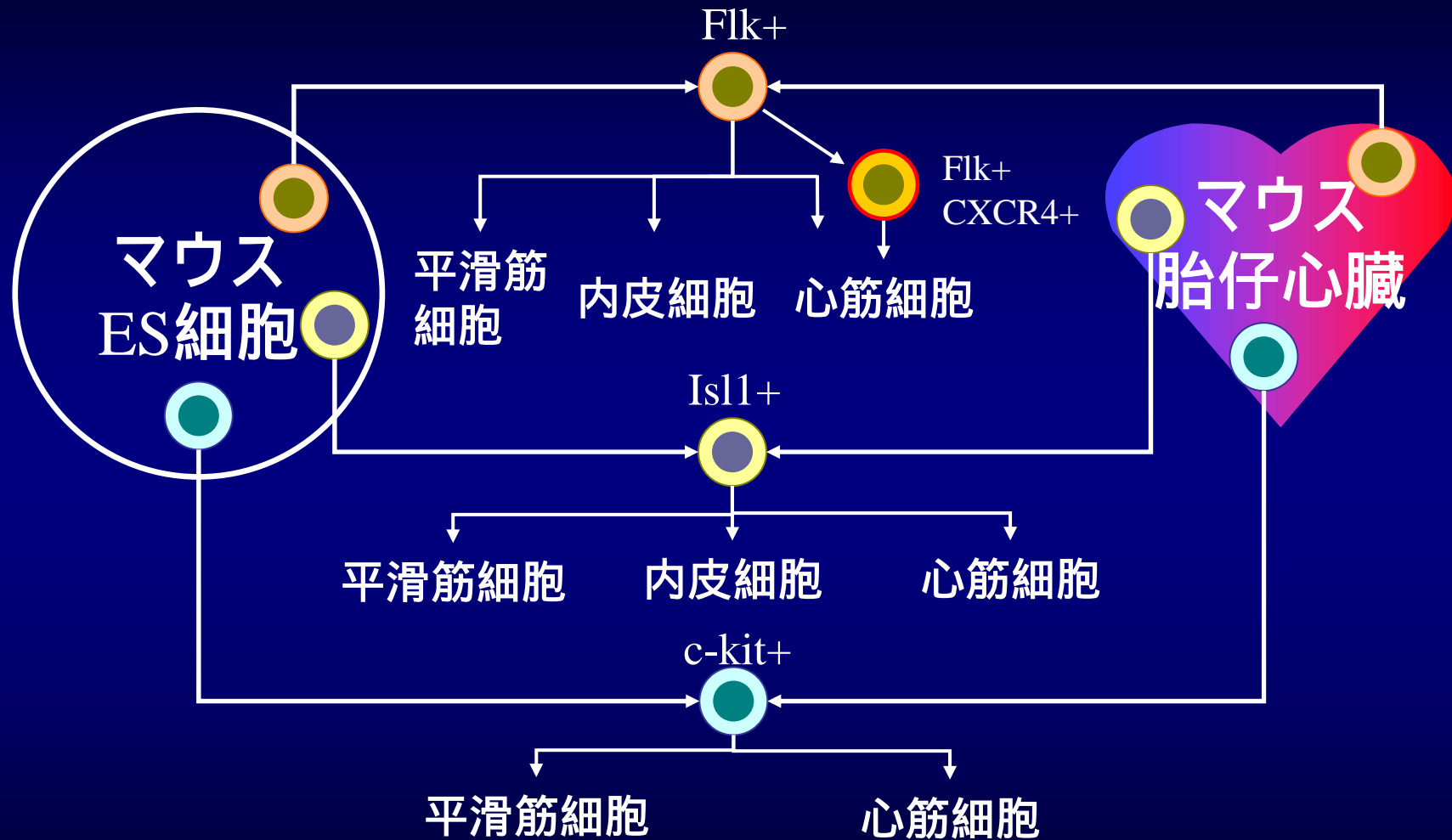
ES細胞からenrichmentされた心筋細胞



心臓発生研究を基礎としたマウスES細胞研究は ES細胞の心筋細胞への効率よい分化誘導法の端緒となる



マウスES細胞と胎仔心臓には共通マーカを持つ 多能性幹細胞が存在する



マウスES細胞と心臓発生の基礎研究は心筋組織再生研究の
両輪をなすため、ともに重要である

ヒトES細胞由来心筋細胞研究の必要性

マウスES細胞

ES細胞移植心筋再生の有用性・問題点

ES細胞から心筋細胞への分化機序解明—心筋誘導因子の同定

ES細胞と心臓発生の協調的研究—心筋前駆細胞の同定

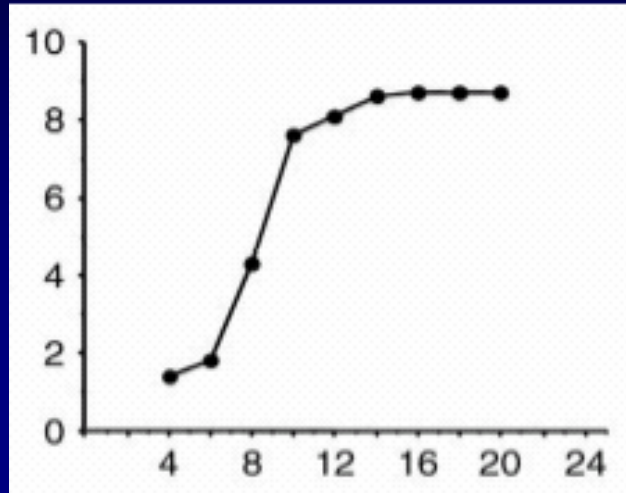


マウスES細胞は細胞表面マーカー、成長因子受容体、サイトカイン受容体などの発現が**ヒトES細胞**と異なるため、マウスES細胞で得られた上記知見をはじめ、遺伝子導入方法、分化誘導方法、心筋誘導因子、心筋前駆細胞のマーカー分子等については必ずしも**ヒトES細胞**にあてはまらない。

霊長類(サル)ES細胞由来心筋細胞

カニクイザルES細胞の
心筋細胞への分化

拍動の
%EBの

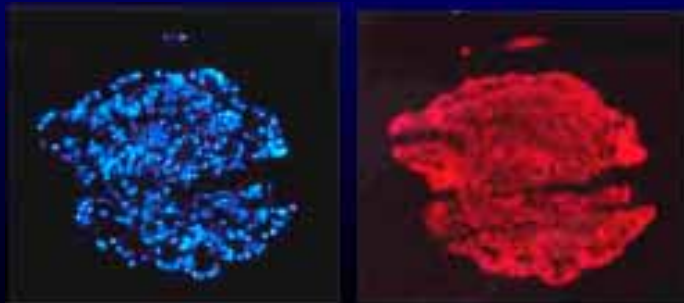


培養日数

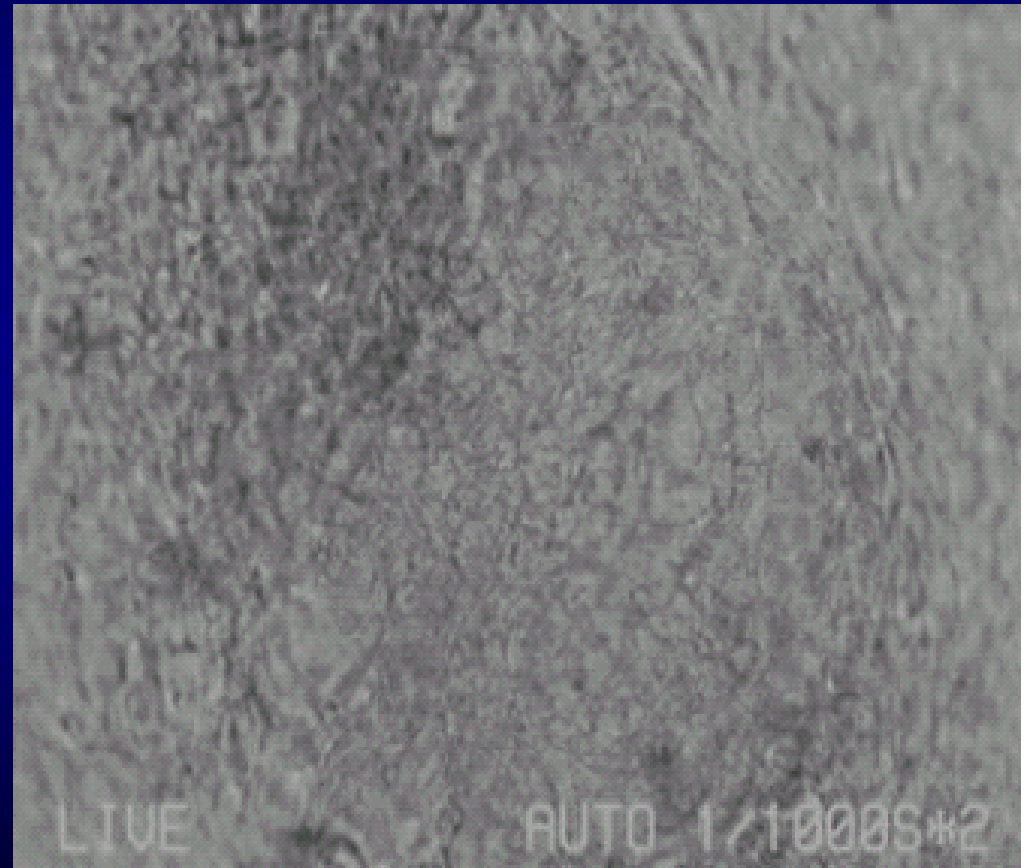
心筋収縮蛋白発現

核

心筋トロポニンT



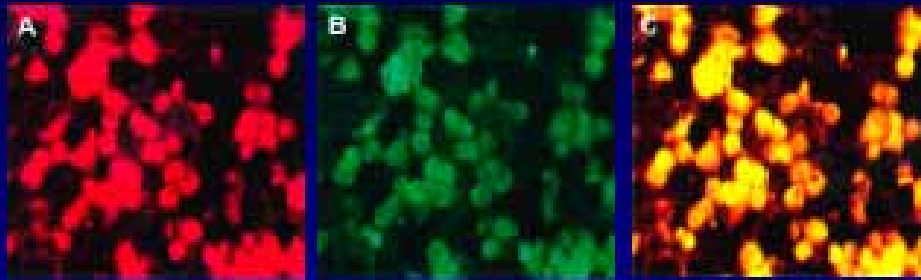
カニクイザルES細胞由来
心筋細胞の自律拍動



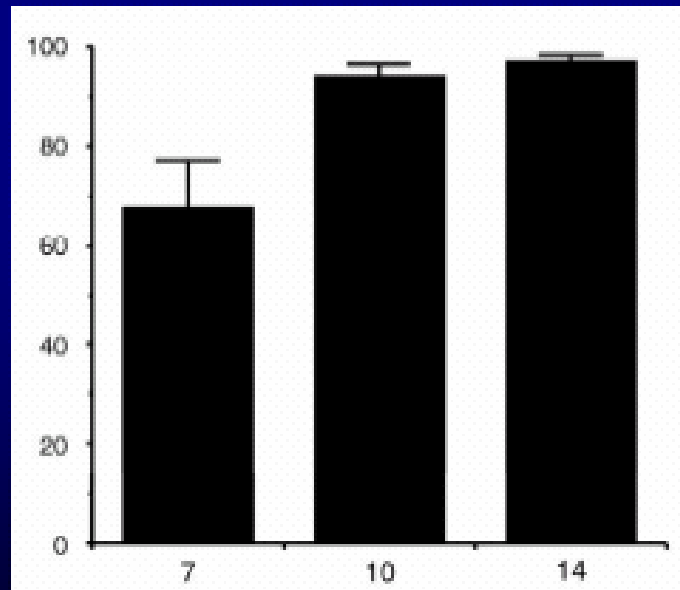
霊長類(サル)ES細胞への遺伝子導入・誘導法の確立

レンチウイルスによる
緑色蛍光色素遺伝子導入

心筋トロポニンT/緑色蛍光色素

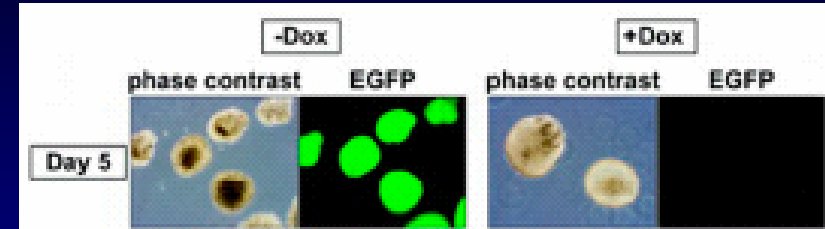


緑色蛍光色素陽性心筋細胞の%



遺伝子導入後日数

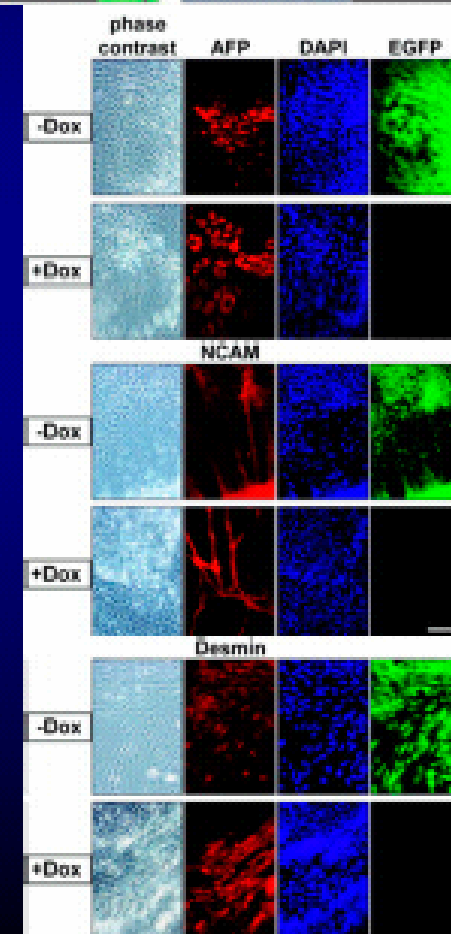
ドキシソルビン依存性(tet off)
遺伝子誘導システム



内胚葉

外胚葉

中胚葉



霊長類(サル)ES細胞由来心筋細胞の研究現状

必要性: ヒトES細胞はマウスES細胞と同様に機能的な作業心筋細胞・ペースメーカー細胞のみならず、血管内皮、平滑筋などの心筋構成細胞へ分化し、細胞移植治療の有望な細胞ソースである。したがって、前臨床試験として、ES細胞移植治療の安全性、有効性を確認するためにはマウスよりも霊長類の移植モデルが必要である。

カニクイザル (Cynomolgus monkey)¹⁾とアカゲザル(Rhesus monkey)²⁾はヒトと近縁の狭鼻下目に属し、医学研究に広く用いられてきた種である。したがって、ES細胞の臨床前研究に役に立つと考えられるが、サルには利用できる抗体や遺伝子情報が限られており、研究をすすめることが困難である。

1) Suemori H et al. Dev. Dyn. 222: 273-279, 2001

2) Thomson JA et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92 7844-7848, 1995

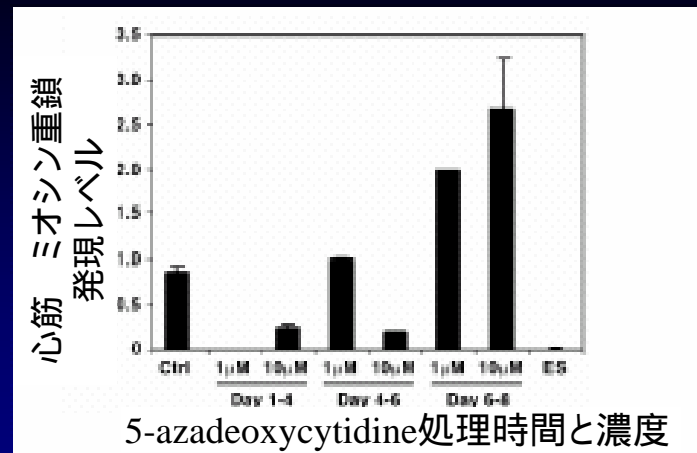
心筋細胞分化促進因子のヒトES細胞とマウスES細胞の相違

マウスES細胞

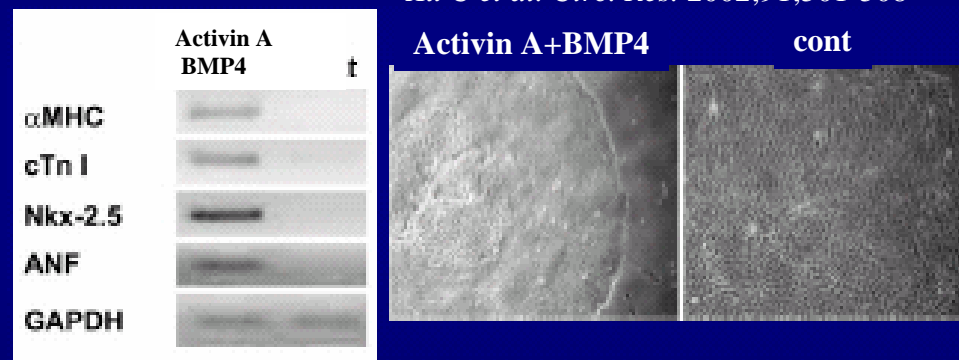
- retinoic acid
- 5-azacytidine
- DMSO
- dynorphin B
- ascorbic acid
- NO
- oxytocin
- FGF
- BMP2
- Wnt
- OP9細胞

ヒトES細胞

- 5-azadeoxycytidine
- Activin A + BMP4
- END-2細胞



Xu C et al. Circ. Res. 2002;91;501-508



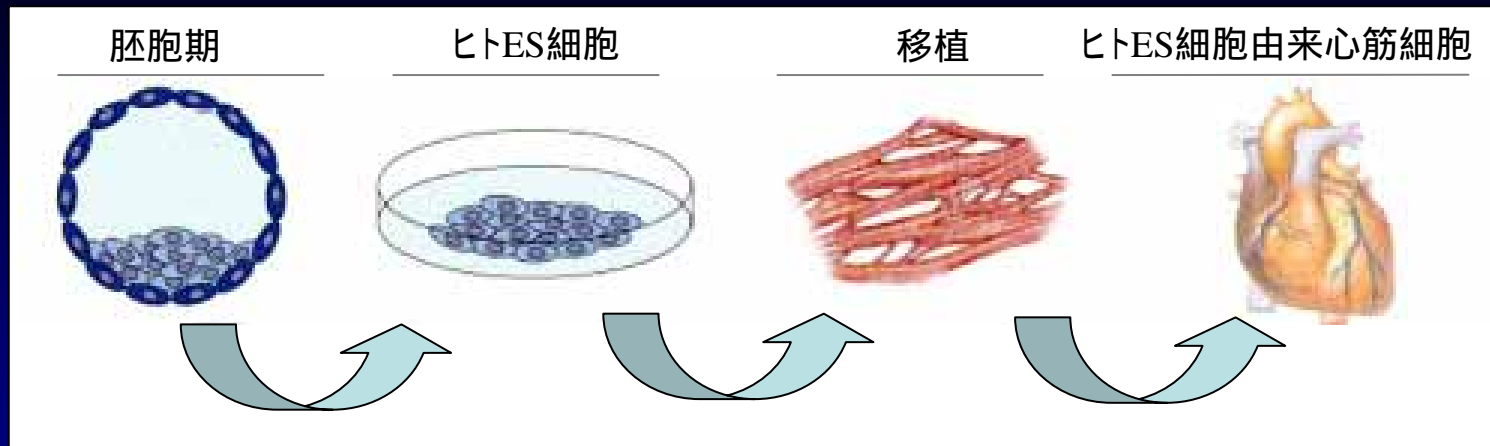
Yao Shuyuan et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2006;103;6907-12

Mummary C et al. Circ 2002;107;2733-40



ヒトES細胞を使用した十分な基礎研究も必要である

ヒトES細胞由来心筋細胞研究の課題



採取

- 再現性のある採取技術
- 倫理的問題

培養

- 染色体の安定性
- 非ヒト動物種を使用しない培養環境

分化

- 再現性のある分化誘導システム
- 単離

- 奇形種形成

移植方法

- 筋肉内、冠動脈内経静脈
- 移植床

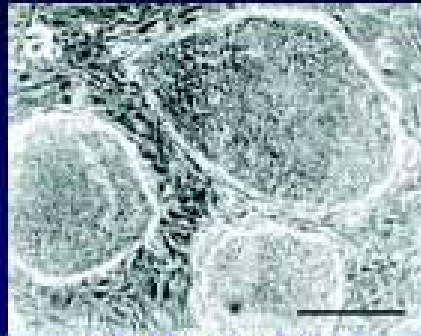
生着

- 電気的機械的結合
- パラクライン機能
- 免疫拒絶反応

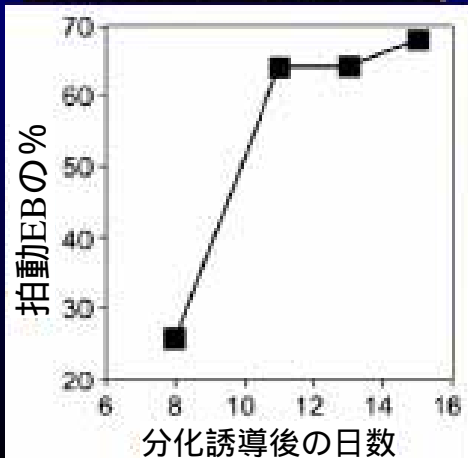
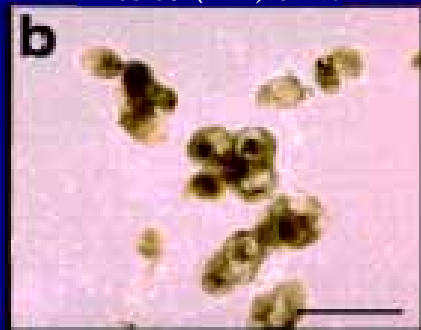
ヒトES細胞由来心筋細胞研究の現状

～ヒトES細胞は構造的・機能的に成熟した心筋細胞に分化する～

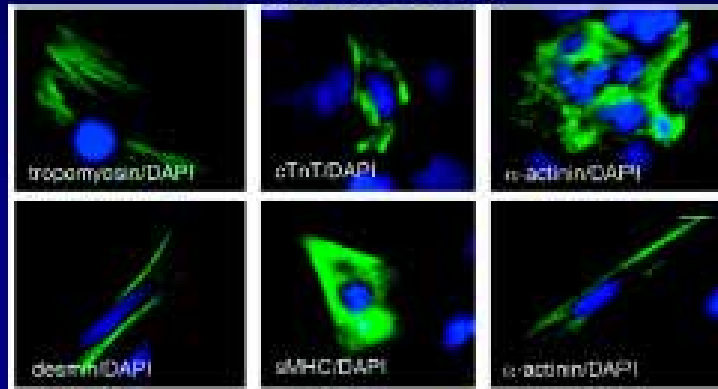
未分化ヒトES細胞



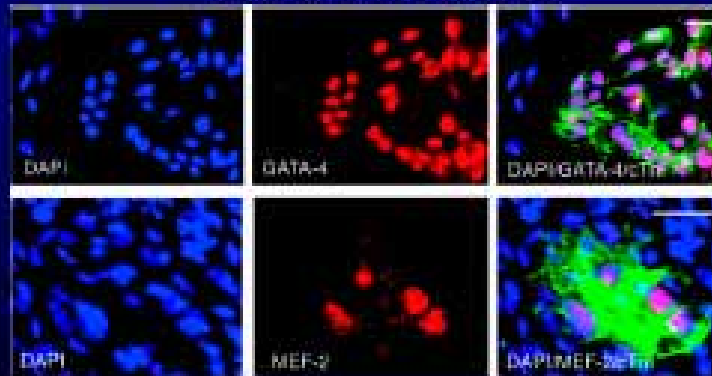
胚様体 (EB) 形成



収縮蛋白の発現



心筋転写因子の発現



拍動EB数の薬物応答

