

平成 年 月 日

## 平成 27 年度共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：鳥取大学医学系研究科

職名：准教授

氏名：白吉 安昭

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

### 記

1. 研究課題：ヒト多能性幹細胞由来の各種心筋細胞を用いた心臓拍動制御系の *in vitro* 再構築
2. 再生医科学研究所共同研究者： 末盛 博文 准教授
3. 研究期間：平成 27 年 4 月 1 日～平成 28 年 3 月 31 日
4. 研究経過及び研究成果：

ヒト ES 細胞から分化誘導した心筋には、電気信号の生成にかかわるペースメーカー細胞などの特殊心筋と、生成された電気信号に基づいて拍動する心室筋・心房筋などの作業心筋が、無秩序に混在している。しかも、これらの比率は、分化誘導ごとに異なる。我々、ヒトの心臓は、特殊心筋と作業心筋、それぞれが、正確な解剖学的位置を占め、その比率も一定である。そこで、多能性幹細胞を分化誘導してできる各種サブタイプ心筋の混在した集団の中から、ペースメーカー細胞および心室筋細胞を純化した形で取り出し、それらを組み合わせることによって、生体心臓の拍動モデルの構築を目指した。

そこでマーカー遺伝子の発現を蛍光タンパク質によって可視化し、マーカー遺伝子を発現する細胞を選択的に分取できるヒト ES 細胞株の樹立を試みた。具体的には、(1) ペースメーカー細胞に関して、マーカー遺伝子である HCN4 イオンチャネルの発現を CFP あるいは GFP で、(2) 心室筋細胞について、MLC2v 遺伝子の発現を mCherry により、選択的に分取できるヒト ES 細胞株の樹立に成功した。

続いて、各蛍光タンパク質を特異的に発現する心筋細胞をセルソーターによって、分取し特性を解析した。分化誘導後 2 ヶ月目において、GFP (HCN4) 陽性細胞は、ペー

スメーカ細胞陽の特性を示し、mCherry (MLC2v) 陽性細胞は、心室筋細胞特性を示した。また、HCN4 陽性細胞は、HL1 心房筋細胞と電氣的に結合でき、その拍動を制御できることも明らかにすることができた。最後に、比較的初期の分化誘導段階で、分取した GFP (HCN4) 陽性細胞は、その後培養を続けると mCherry の蛍光を発することが分かった。これは、HCN4 陽性細胞が、心室筋用細胞へとさらに分化することを示している。HCN4 が、心臓発生初期には、心臓プロジェニター細胞のマーカであることと一致する。また、本研究で、開発した分化誘導法を疾患 iPS 細胞の心筋分化へと応用し、LQT1 症候群の病因・病態解明を行った。

## 5. 研究成果の公表

※発表論文リスト (掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可)、学会発表等

Sogo T, Morikawa K, Kurata Y, Li P, Ichinose T, Yuasa S, Nozaki D, Miake J, Ninomiya H, Shimizu W, Fukuda K, Yamamoto K, Shirayoshi Y, Hisatome I. Electrophysiological properties of iPS cell-derived cardiomyocytes from a patient with long QT syndrome type 1 harboring the novel mutation M437V of KCNQ1. Regenerative Therapy, in press (2016).