

平成 22 年 5 月 7 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007～2010

課題番号：19209047

研究課題名（和文） 成体由来幹細胞からの三次元心筋組織作製法の開発と臨床応用

研究課題名（英文） Development of 3D culture system using stem cells derived from adult Tissue and its clinical application

研究代表者

川口奈奈子（KAWAGUCHI NANAKO）

東京女子医科大学・国際統合医科学インスティテュート・講師

研究者番号：10200700

研究代表者の専門分野：胸部外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：幹細胞 心筋、分化、再生、三次元培養、心臓

### 1. 研究計画の概要

心筋梗塞、心不全、心筋症など、臓器移植のみが根本的治療法の疾患に対して、臓器移植に代わる再生医療をめざす。ソースの細胞を、心臓由来幹細胞とした。その理由は、自己の心臓由来の幹細胞が最も心臓の再生に適合するであろうと考えたからである。また、幹細胞の性質あるいは心筋細胞へ分化のプロセスを研究することにより、さらに簡便な治療法の開発が可能と考えて、研究を進行させている。

### 2. 研究の進捗状況

幹細胞の形質を備えた c-kit 陽性細胞が成体の心臓（ヒト、ブタ、イヌ、ラット、マウス）に存在することが報告され、我々は、この方法を学び、同様の方法で成体ラットから幹細胞を得、それを再生医療に用いるために、細胞の性質について調べてきた。その結果、細胞によって様々な特色を持ちうる事が分かってきた。成体心臓由来幹細胞は安定した形質を保ち続ける反面、胚性幹細胞や iPS 細胞に比べて分化の効率がよくない。また、幹細胞といっても、さまざまな性質が存在し、その特色を生かすような応用を考える必要があると感じた。そこで、それぞれの幹細胞の特徴を活かした再生医療の開発を考えて研究を進め、成果をまとめつつある。

具体的には、心臓移植に適した 3D ナノマイクロ培養法の開発、GATA4 高発現心臓由来幹細胞が有する心筋細胞に対する寿命の亢進メカニズム、スフィアを形成する心臓由来幹細胞のプロテオーム解析、成体左心房由来細胞から幹細胞を樹立し(LA-PC)、

筋分化に関するシグナルパスウェイをマイクロアレイによって解析し、TGF- $\beta$  が、脂肪分化を抑えて、筋分化を促すことを見出した。さらに、noggin が、成熟心筋細胞の誘導を強く促進することを見いだした。このような結果は、将来、心臓内にある幹細胞を、（不要な）脂肪細胞ではなく心筋細胞に分化させて心筋細胞を補っていくような、内科的治療法の開発にもつながる可能性を有するのである。

以上の結果を論文発表、および、国際国内学会で発表しつつある。

### 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している

移植に関しては、幹細胞を注入しても拡散してしまうので、媒体となるコラーゲンスキャフォールドを開発した（論文印刷中）。問題は、ソースの幹細胞であり、安定した心筋細胞分化方法の開発が必要であった。ようやく拍動する心筋細胞への分化を引き起こすことができたが、数が少なく、多くの拍動する心筋細胞を得ることが困難であり、さらに、脂肪細胞への分化が課題であった。このため、全ゲノム解析により、心筋細胞に分化するシグナル伝達系について検討し、脂肪細胞への分化を抑制して、多くの拍動する心筋細胞を得ることに成功した。

ヒトの細胞まで進められなかったのに、にはならないが、成体幹細胞を用いて多くの拍動する心筋細胞を得られるようになったことは、大きな発展と考えられるので、の評価とした。

4. 今後の研究の推進方策  
他の幹細胞についても検討を加えるとともに、今回得られた成果を発表し、臨床へ近づけるよう努力したい。

5. 代表的な研究成果  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計6件)

全て査読あり(4件)

Kawaguchi N, Yamaguchi M, Nakao R, Ogawa D and Matsuoka R, TGF- Superfamily regulates a switch that mediates differentiation either into adipocytes or myocytes in left atrium derived pluripotent cells (LA-PCs). *Biochemical and Biophysical Research Communications*(in press)

Hosseinkhani H, Hosseinkhani M, Hattori S, Matsuoka R and Kawaguchi N Micro and nano-scale *in vitro* 3D culture system for cardiac stem cells. *Journal of biomedical materials research, Part A (in Press)*.

Md. Kamrul Hasan, Yuta Komoike, Shin-ichiro Tsunesumi, Hiroaki Nagao, Ryota Nakao, Rumiko Matsuoka, and Nanako Kawaguchi (2010) Myogenic differentiation in atrium-derived adult cardiac pluripotent cells and the transcriptional regulation of GATA4 and myogenin on ANP promoter *Genes to Cells* (15)439-453.

Miyamoto S, Kawaguchi N, Ellison G, Matsuoka R, Shin'oka T and Kurosawa H, Characterization of long-term Cultured Cardiac Stem Cells (CSCs) Derived from Adult Rat Hearts (2010) *Stem Cells and Development* 19, 1, 105-116.

〔学会発表〕(計11件)

Kawaguchi N, Nakao R and Matsuoka R (2009) Identification of the genes involved in signal transduction during myogenesis by using LA-PCs. American Society for Cell Biology, 2009-12-6, San Diego.