

2024年12月16日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部
慶應義塾大学病院
国立大学法人筑波大学

収縮力の保たれた心不全が心筋ダイレクトリプログラミングで改善 —心不全の心臓線維化を標的とした新たな遺伝子治療法の開発に成功—

慶應義塾大学医学部内科学教室（循環器）の家田真樹教授、貞廣威太郎助教、筑波大学医学医療系循環器内科の山田優助教らの研究グループは、心臓線維芽細胞から直接心筋細胞を誘導する再生医療である「心筋ダイレクトリプログラミング法」によって、収縮力の保たれた心不全の治療に成功しました。

心臓を構成する心筋細胞は再生能力が乏しく、心機能が著しく低下した心不全（注1）の根治療法は、心臓移植しかありませんが、ドナー不足などの問題により、十分な治療の提供は困難です。また、iPS細胞などの多能性幹細胞を用いた再生医療が注目されていますが、これにも、腫瘍形成の可能性、組織生着率や治療効果の低さに加えて、心不全の特徴である心臓線維化への治療効果が乏しいといった課題があります。本研究グループは、これらの課題を解決し得る方法として、多能性幹細胞を用いずに心臓線維芽細胞から直接心筋細胞を誘導する「心筋ダイレクトリプログラミング法」を開発し、心筋梗塞マウス、収縮力が低下した心不全マウスにおける心臓再生と、心臓線維化と心臓機能の改善に成功しています。心不全は収縮力が低下した心不全と、収縮力の保たれた心不全に二分されますが、これまで、有効な治療法のない収縮力の保たれた心不全にもこの方法が適用できるかは不明でした。そこで本研究では、心臓線維芽細胞において心筋リプログラミング遺伝子の発現を薬剤投与によって自由に制御できる遺伝子改変マウスを開発し、このマウスを用いて、心筋ダイレクトリプログラミングにより、収縮力の保たれた心不全の線維芽細胞から心筋細胞が再生し、心臓線維化と心臓機能が改善することを世界で初めて明らかにしました。さらに、心筋リプログラミング遺伝子の一つである *Gata4* 遺伝子が心臓線維化治療に重要であることを発見し、*Gata4* 遺伝子単独の遺伝子導入による、心臓線維化改善効果を介した収縮力の保たれた心不全の治療法を開発しました。

本研究成果は、2024年12月14日（米国東部時間）に *Circulation* に掲載されました。

1. 研究の背景と概要

心臓機能が低下し日常生活が脅かされる心不全は、「収縮力が低下した心不全」と「収縮力の保たれた心不全」に二分され、同等に生命予後が不良であることが知られています。収縮力の保たれた心不全は、加齢や、生活習慣病、心臓の炎症や線維化が原因として推定される複雑な病気であり、生命予後を改善する治療薬は確立していません。さらに収縮力の保たれ

た心不全は、国内で 120 万人が存在するとされる心不全患者さんの半数を占めるため、有効な治療法の開発が待ち望まれています。

本研究グループは、心臓線維芽細胞から直接心筋細胞を誘導する「心筋ダイレクトリプログラミング法」を開発してきました。また、心臓線維芽細胞から心筋細胞を作り出すために必要な心筋リプログラミング遺伝子(注 2)である *Mef2c*, *Gata4*, *Tbx5*, *Hand2* を見だし、心筋梗塞モデルマウスと、収縮力が低下した心不全モデルマウスの心臓線維芽細胞に心筋誘導遺伝子を導入することで、心臓内の線維芽細胞が心筋細胞へ直接転換し、心臓線維化が改善し、心臓機能が回復することを報告しています。心臓線維化は心不全全般に共通する特徴であり、心不全の進行や予後の悪化と関連しています。収縮力が保たれた心不全においても、心臓線維化が病態の一部を占めており、心筋ダイレクトリプログラミングによる線維芽細胞からの心筋再生と、心臓線維化効果が有効である可能性が示唆されました。しかしながら、これまで収縮力の保たれた心不全については、検証が行われていません。新たな心不全治療法開発を進める上で、心筋ダイレクトリプログラミング法が収縮力の保たれた心不全にも適用可能であるかを明らかにすることは非常に重要です。そこで本研究では、生体内心臓線維芽細胞での心筋リプログラミング遺伝子発現を薬剤投与によって自由に制御できる遺伝子改変マウスを開発し、これを用いて、心筋ダイレクトリプログラミングの治療効果を調べました。

2. 研究の成果と意義・今後の展開

本研究では、ホルモン剤の一つであるタモキシフェン投与により、心臓線維芽細胞でのみ心筋リプログラミング遺伝子と赤色の蛍光蛋白質が発現する遺伝子改変マウスを作製しました。これにより、任意の時期における心筋ダイレクトリプログラミングが可能になり、さらに赤色で標識した線維芽細胞を追跡することができます。高血圧と、高脂肪食の摂取によって収縮力の保たれた心不全を発症したモデルマウスに、タモキシフェンを投与して心筋ダイレクトリプログラミングの効果を解析しました。その結果、心臓線維芽細胞から直接誘導された心筋細胞が約 1%認められ(図 1)、2 か月後にはマウスの心臓機能や運動機能が回復しました。また、心不全の特徴である心臓線維化領域が約半分に縮小しました。

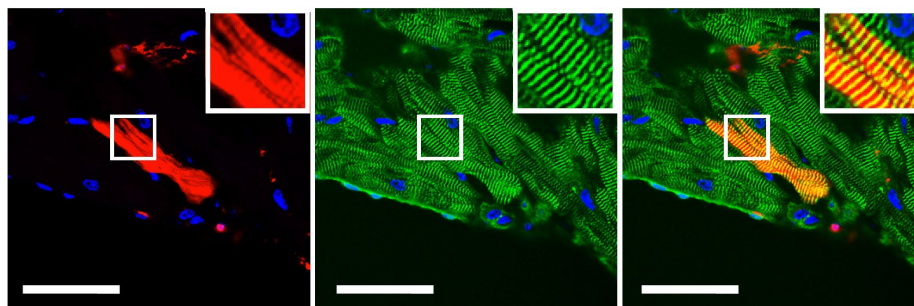


図 1 心筋ダイレクトリプログラミング後の心不全モデルマウス心臓の観察

タモキシフェン投与により線維芽細胞とその細胞系譜は赤色で標識される。左図は線維芽細胞であったことを示す赤色蛍光蛋白質、中図は心筋構造蛋白質である α アクチニン、右図はこれらを統合した図となる。右図では赤色蛍光蛋白質を発現した細胞が心筋構造蛋白質トロポニン T (緑色) を発現しており、線維芽細胞から心筋ダイレクトリプログラミングによって誘導された再生心筋細胞であることがわかる。スケールバーは

心臓組織の遺伝子発現解析の結果、心筋ダイレクトリプログラミングにより心筋発生や機能に関連する遺伝子発現が上昇する一方で、線維化や炎症などの心不全の発症、進行に関連する遺伝子の発現が低下することを見出しました。さらに、心筋細胞へ転換しなかった心臓線維芽細胞の遺伝子発現を 1 細胞レベルで明らかにする、シングルセル解析（注 3）を行いました。これにより、収縮力の保たれた心不全の心臓線維芽細胞は 6 種類の異なる細胞集団から構成されており、心不全では、これらの細胞集団ごとに、心臓線維化や心不全の悪化に関連する細胞外基質や TGF β シグナル関連遺伝子の発現が誘導されていることがわかりました。一方、心筋ダイレクトリプログラミングを行うと、心不全によって誘導されたこれらの有害な遺伝子発現が抑制されていました。また、空間的遺伝子発現解析（注 4）を行い、これらの線維芽細胞集団の中で、収縮力の保たれた心不全の特徴である血管周囲・間質の心臓線維化に関連する細胞集団と、心不全における状態変化を明らかにしました。これらの結果から、心筋ダイレクトリプログラミングには心筋再生作用に加えて、心不全によって誘導された線維芽細胞の有害な遺伝子発現の変化を正常化させる抗線維化作用があることが示されました。さらに、線維芽細胞が正常化する機序として、リプログラミング因子の一つである Gata4 遺伝子が重要であることを明らかにしました。具体的には、Gata4 遺伝子単独の遺伝子導入によって心不全における線維芽細胞の活性化遺伝子 Meox1（注 5）の発現を抑制することで、収縮力の保たれた心不全の心臓線維化と心臓機能を改善可能であることを明らかにしました（図 2）。これらの結果から、心筋ダイレクトリプログラミングは、心臓線維芽細胞からの心筋再生と、線維芽細胞の正常化による抗線維化作用の両面で、Gata4 遺伝子の遺伝子導入による抗線維化作用によって収縮力の保たれた心不全の病態を改善させることがわかりました（図 3）。

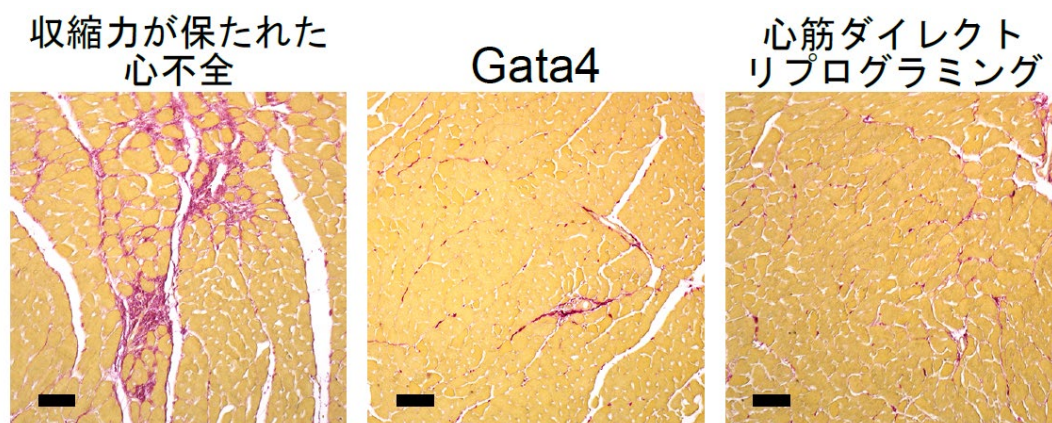


図 2 心筋ダイレクトリプログラミング後、Gata4 遺伝子導入後の心不全モデルマウス心臓の観察

シリウスレッド染色後の心臓組織切片を示す。線維化領域は赤色で染色される。心不全の特徴である血管周囲・間質の線維化が、Gata4 遺伝子導入後、心筋ダイレクトリプログラミング後では改善していることがわかる。スケールバーは 50 μ m。

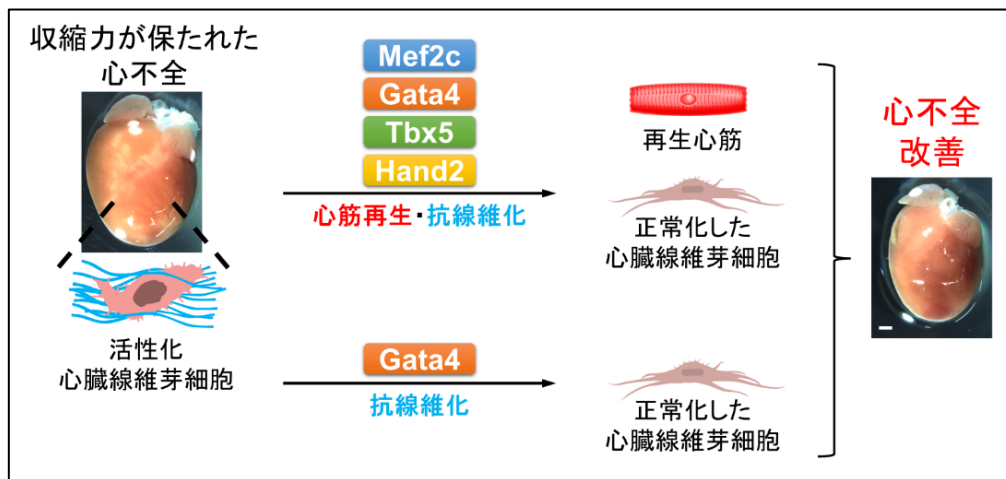


図3 本研究のまとめ

4つの心筋リプログラミング遺伝子（Mef2c/Gata4/Tbx5/Hand2）導入によって線維芽細胞から心筋が再生し、線維化領域が減少し、収縮力の保たれた心不全の心機能が改善する。Gata4 遺伝子の遺伝子導入は抗線維化作用によって収縮力の保たれた心不全を改善させる。

本研究により、心筋ダイレクトリプログラミングが、心筋梗塞や収縮力が低下した心不全だけでなく、収縮力の保たれた心不全にも適用できる心臓再生治療として応用が可能であることが示され、新しい心臓再生医療の実現を大きく前進させるものと期待されます。今後、心筋ダイレクトリプログラミング効率の改善や遺伝子導入方法の開発などを検討するとともに、臨床応用を目指して、研究を進めていきます。

3. 特記事項

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）再生医療実現拠点ネットワークプログラム，再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム ダイレクトリプログラミングによる革新的心臓再生遺伝子治療の開発 JP24bm1123012、再生・細胞医療・遺伝子治療プロジェクトダイレクトリプログラミングによる慢性心不全に対する革新的心臓再生、公益財団法人武田科学振興財団、公益財団法人三菱財団、公益財団法人日本応用酵素協会、公益財団法人 MSD 生命科学財団、JSPS 科研費 JP21K08072, JP21K19471, JP22H03065, JP23K24326, JP24K02850 の支援によって行われました。

4. 論文

英文タイトル：Cardiac reprogramming and Gata4 overexpression reduce fibrosis and improve diastolic dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction

タイトル和訳：心筋ダイレクトリプログラミングと Gata4 遺伝子の強制発現は収縮力の保たれた心不全の線維化と心臓機能を改善する

著者名：山田優、貞廣威太郎、仲野晃司、本田誠一郎、安部悠人、秋山達也、藤田諒、中村匡、前田高志、久世裕太、大西 雅也、関 真秀、鈴木 穰、竹内力、岩崎由香、村野 健作、坂田・柳元麻実子、千葉滋、加藤秀之、坂本裕昭、平松祐司、家田真樹

【用語解説】

- (注1) 心臓病によって心臓のポンプ機能が低下したことに伴い息切れやむくみなどが出現し、日常生活に支障がある状態。
- (注2) 本研究グループが発見した、マウス線維芽細胞から心筋細胞を直接作製するために必要な3遺伝子(Mef2c, Gata4, Tbx5)あるいはこれにHand2を加えた4遺伝子。
- (注3) 1細胞ごとに転写産物の種類と量を網羅的に推定する解析手法。各細胞に特徴的な遺伝子発現プロファイルや遺伝子発現変化を解析することでことが可能となる。
- (注4) 組織切片上の転写産物の種類と量を網羅的に推定する解析手法。細胞の位置情報を保持したまま、組織上の遺伝子発現を可視化することが可能となる。
- (注5) 心不全の心臓線維芽細胞で発現が上昇することが知られている転写因子で、線維化に関連する遺伝子群の発現を上昇させ、心臓線維化を誘導する。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、筑波研究学園都市記者会、各社科学部等に送信しております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部 内科学教室 (循環器)

教授 家田 真樹 (いえだ まさき)

助教 貞廣 威太郎 (さだひろ たけたろう)

<http://www.cpnet.med.keio.ac.jp>

筑波大学医学医療系 循環器内科

助教 山田 優 (やまだ ゆう)

<https://www.md.tsukuba.ac.jp/clinical-med/cardiology/>

【本リリースの配信元】

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課：飯塚・岸

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL : 03-5363-3611 FAX : 03-5363-3612 E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp

<https://www.med.keio.ac.jp>

筑波大学広報局

〒305-8577 茨城県つくば市天王台 1-1-1

TEL : 029-853-2040 FAX : 239-853-2014 E-mail : kohositu@un.tsukuba.ac.jp

<https://www.tsukuba.ac.jp/>