

## ヒトiPS細胞由来心臓組織におけるコネキシン43の抑制は、心筋細胞増殖を介して収縮力を向上させる

メタデータ	言語: 出版者: 東京女子医科大学学会 公開日: 2024-04-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 高田, 卓磨, 松浦, 勝久, 飯田, 達郎, 小池, 達也, 佐々木, 大輔, 山口, 淳一, 清水, 達也 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10470/0002000119">http://hdl.handle.net/10470/0002000119</a>

の過剰発現では、Sema3Aによる樹状突起伸長作用が消失した。また生体脳へのY501Fの過剰発現は、皮質神経細胞の基底樹状突起の複雑さや総基底樹状突起長を減少させ、先端樹状突起には方向異常が見られた。これらの表現型はPtpδ<sup>-/-</sup>やFynノックアウトマウスでも同様であった。したがってPTPδはSIRPα Y501を間接的にリン酸化する一方で直接脱リン酸しており、このY501のリン酸化/脱リン酸化サイクルが基底/先端樹状突起発達を促進することを示している。

## 2. トロンボポエチンシグナルによる免疫調整機構の解析

(東京女子医科大学医学部解剖学(顕微解剖学・形態形成学分野) 矢作綾野・望月牧子・横溝智雅・石津綾子

トロンボポエチン(Thpo)は造血幹細胞の維持、自己複製および巨核球・血小板産生に関与するサイトカインである。しかしながら感染・炎症などストレス応答にThpoがどのように関与するのかわからない。今回、炎症時の全身免疫応答と骨髓造血幹細胞による生体反応について解析した。

野生型マウスにLPSを腹腔内接種し、骨髓細胞への影響をフローサイトメトリーにて確認した。骨髓内造血幹細胞数は炎症に関わらず一定の細胞数を維持したが、巨核球-赤芽球前駆細胞(preMegE)数はLPS投与後速やかに低下、巨核球前駆細胞(MKP)および巨核球はLPS投与1日後に増加した。巨核球はストレス下において抗原提示細胞として機能することが報告されていることから、T細胞への抗原提示能の指標であるMHCクラスIIの発現量を解析した。その結果、巨核球に加え、pre-MegE、MKPにおいても発現上昇を認めた。骨髓免疫染色で細胞局在を確認したところ、LPS投与の骨髓はMKP、巨核球の指標となるCD41陽性細胞の近傍にT細胞が存在していた。一方、Thpo<sup>-/-</sup>はLPS投与後も造血幹細胞数、preMegE、MKP数が低下したままだった。以上によりLPSによって、血小板分化が速やかに誘導されること、Thpoは造血幹細胞数、PreMegE、MKPの細胞を調整することにより炎症が促進する可能性が示唆された。

## 3. *C. elegans*の全身性RNAiをモデルとした機能性RNAの輸送機構の解明

(東京女子医科大学<sup>1</sup>医学部生理学(分子細胞生理学分野)、<sup>2</sup>総合医科学研究所)

吉田慶太<sup>1</sup>・末廣勇司<sup>1</sup>・出嶋克史<sup>1</sup>・吉名佐和子<sup>1</sup>・三谷昌平<sup>1,2</sup>

生物にとって細胞間の情報伝達は重要である。近年、RNAが細胞外に分泌されて情報伝達に寄与することが

明らかになりつつある。しかしながら、RNAの細胞間伝播を調節する分子機構についてはまだよくわかっていない。線虫(*C. elegans*)では、RNAiを誘導する二本鎖RNA(dsRNA)が発現細胞外にも拡散して全身でRNAiの効果が現れ、全身性RNAiという現象が起きる。また、餌となる大腸菌にdsRNAを発現させることでも全身性RNAiが起きることから(feeding法)、標準的な遺伝子ノックダウン法として利用されている。一方で、全身性RNAiにおいてdsRNAの細胞間輸送を担う機構は未解明である。

我々は、線虫の全身性RNAiを機能性RNAの細胞間伝播モデルとして、その分子機構の解明を進めている。全身性RNAiに異常をきたす変異体のスクリーニングを実施したところ、REXD-1とTBC-3という2つの分子がdsRNAの伝播に関わることを見出した。これらの因子は、既知の全身性RNAi制御因子であるSID-5と冗長的に機能していた。REXD-1、TBC-3、SID-5のすべてを欠損した三重変異体株は、腸を除く組織においてfeeding法によるRNAiに強い耐性を示した。しかし、同株の擬体腔にdsRNAを直接注入した場合はRNAiが誘導された。これらの結果から、三重変異体株では腸からのdsRNAの分泌が強く阻害されていると考えられる。一方で、腸からのタンパク質の分泌は正常に起きていたことから、dsRNAの分泌の制御は特異的であることが示唆された。以上の結果より、線虫の全身性RNAiにおいてdsRNAの分泌を制御する分子経路が明らかになった。今後、関連する分子などを明らかにしていくことで、機能性RNAの輸送機構の理解がさらに進むことが期待される。

## 4. ヒトiPS細胞由来心臓組織におけるコネキシン43の抑制は、心筋細胞増殖を介して収縮力を向上させる

(東京女子医科大学<sup>1</sup>先端生命医科学研究所、<sup>2</sup>循環器内科) 高田卓磨<sup>1,2</sup>・

松浦勝久<sup>1,2</sup>・飯田達郎<sup>1,2</sup>・小池達也<sup>1,2</sup>・

佐々木大輔<sup>1</sup>・山口淳一<sup>2</sup>・清水達也<sup>1</sup>

〔緒言〕コネキシン43(Cx43)は、心臓の同期的収縮に重要な役割を果たすことが報告されている。しかし、Cx43が直接的に心筋組織の収縮力向上に寄与するかは不明である。我々は以前に、ヒトiPS細胞由来(hiPSC)心筋組織全体の収縮力の直接測定と組織内の細胞レベルでの収縮同期性の評価に成功した。それらの技術を用いて、Cx43をコードするGJA1遺伝子の制御が心筋組織全体の収縮力と同期性に及ぼす影響を検証した。〔対象と方法〕アデノ随伴ウイルスを用いて、hiPSC心筋組織のGJA1の過剰発現またはノックダウン(shGJA1)を行った。拍動数を電気刺激下(60回/分)に統一した上で組織の収縮力を直接測定し、同期性を運動解析にて評価した。

[結果] GJA1 過剰発現心臓組織において、収縮力は、対照群と比較し減少傾向であった ( $0.78 \pm 0.39$  vs.  $0.98 \pm 0.43$  mN,  $p=0.32$ ). 同期性は2群間で統計学的有意差を認めなかった ( $p=0.20$ ). 一方, shGJA1 処理心筋組織は、対照処理心筋組織よりも有意に高い収縮力を示した ( $1.9 \pm 0.55$  vs.  $1.1 \pm 0.20$  mN,  $p=0.003$ ). 同期性は2群間で統計学的有意差を認めなかった ( $p=0.08$ ). Nkx2.5 陽性細胞数は、shGJA1 処理 hiPSC 心筋細胞集団において、対照集団よりも1週間の培養後に約1.3倍に増加した.

[考察] Cx43 の発現が一定のレベルを超えて存在する場合、収縮同期性とCx43 の発現量は相関しない可能性がある. Cx43 は心筋細胞増殖に関与し、収縮能に影響を与えた可能性がある. これらの所見は、同期的収縮以外のCx43 の新たな側面を反映した結果かもしれない. [結論] hiPSC 心筋組織におけるCx43 の抑制は、細胞増殖を介して、同調性を損なうことなく収縮力を向上させた.

## 5. ヘテロクロマチンを標的としたマラリア原虫の生存戦略の解析

(<sup>1</sup>東京女子医科大学医学部衛生学公衆衛生学(公衆衛生学分野グローバルヘルス部門), <sup>2</sup>大阪大学微生物病研究所分子原虫学分野)

森 稔幸<sup>1</sup>・中嶋 舞<sup>2</sup>

マラリアは世界三大感染症の1つであり、熱帯地域において今もなお年間2億人の感染者と60万人以上の死者をもたらす. マラリア撲滅を困難としている原因として、有効なワクチンの不在や薬剤耐性体の出現などが挙げられるが、その根底にあるのがマラリア原虫における、①巧妙な遺伝子発現スイッチングと、②遺伝的多様性をもたらす有性生殖である. 興味深いことにその2つの事象はいずれもマラリア原虫のエピジェネティックな遺伝子発現制御をカギとしており、関連遺伝子はヘテロクロマチンという染色体の凝縮領域で強固な発現抑制を受けることがわかっている. 演者らはマラリア原虫のヘテロクロマチンをマラリア撲滅の新たな標的とし、その形成における分子機構の解明を目標としている.

赤血球ステージのマラリア原虫は大半が無性生殖によって増殖を繰り返すが、一部の細胞は生殖細胞分化のマスター転写因子 AP2-G をヘテロクロマチン化の解除によって発現し、有性生殖母体(ガメトサイト)に分化する. 近年演者らは、AP2-G 遺伝子座に存在する何らかの塩基配列にヘテロクロマチン構築の因子が存在することを期待し、熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) AP2-G 遺伝子座の部分配列を用いたレポーターアッセイ系を開発した. AP2-G 遺伝子のプロモーター領域やターミネーター領域を人工染色体として原虫に導入したところ、プロモーター領域の特定の配列を基点として人工染色体がヘテロクロマチン化することがわかっ

た. この結果は、マラリア原虫のヘテロクロマチンが塩基配列依存的に構築されることを示す世界初の発見となった.

## 6. カドミウム曝露により惹起される尿細管細胞死の分子基盤の解析

(<sup>1</sup>東京女子医科大学医学部衛生学公衆衛生学(環境・産業医学分野), <sup>2</sup>東京女子医科大学医学部総合研究所, <sup>3</sup>千葉大学薬学研究院生化学教室, <sup>4</sup>東海大学工学部医用生体工学科, <sup>5</sup>東京女子医科大学医学部解剖学(顕微解剖学・形態形成学分野), <sup>6</sup>聖マリアンナ医科大学医学部腎臓・高血圧内科)

藤木恒太<sup>1</sup>・

田邊賢司<sup>2</sup>・鈴木翔大<sup>3</sup>・望月 明<sup>4</sup>・

望月牧子<sup>5</sup>・菅谷 健<sup>6</sup>・溝口貴正<sup>3</sup>・

伊藤素行<sup>3</sup>・石津綾子<sup>5</sup>・松岡雅人<sup>1</sup>

ヒトがカドミウムに曝露されると腎機能障害が生じ、その際に尿細管細胞死が惹起される. 外的刺激依存的に腎機能障害が生じる多くの場合、尿細管細胞死が惹起されることから、外的刺激依存的かつ特異的な尿細管細胞死の分子基盤を理解することは、腎機能障害の病態機序の理解、治療や予防にも繋がると考えられる. 我々は、カドミウム曝露依存的尿細管細胞死 (CdRCD) の分子基盤を明らかにすべく研究しており、今回、新たに同定した CdRCD 抑制成分 X の作用機序について報告する. 初めに、成分 X が影響を及ぼす分子を探索したところ、ヒト由来尿細管細胞 (HK-2 細胞および初代培養細胞) において成分 X がカドミウムおよび EGF 刺激依存的なリン酸化酵素 Akt の活性化を抑制することを見出した. 加えて、Akt の機能を阻害した尿細管細胞では、CdRCD が抑制されることから、成分 X は Akt の機能を抑制することで、カドミウム毒性を減弱すると考えられた. 次に、Akt の CdRCD における役割について調べた結果、カドミウムを曝露した尿細管細胞では不良タンパク質で構成される構造体 aggresome が形成されること、また Akt の機能阻害した細胞では、転写因子 TFEB・TFE3 が活性化し、aggresome を特異的に分解する autophagy (aggrephagy) が促進されることを見出した. 以上の結果から、成分 X はカドミウム曝露依存的に活性化した Akt を抑制することで不良タンパク質の分解を加速し、その結果、タンパク質毒性・尿細管細胞死を減弱すると考えられる.

## 7. 自己免疫性膵炎の病態形成に関与する細菌因子

(<sup>1</sup>東京女子医科大学医学部微生物学免疫学分野, <sup>2</sup>早稲田大学大学院先進理工学研究科生命医学専攻)

大坂利文<sup>1</sup>・

大町聡子<sup>2</sup>・常田 聡<sup>2</sup>・柳澤直子<sup>1</sup>