シンポジウム

シンポジウム4
先天性心疾患の発生と幹細胞医学

座長:
南沢 享 (東京慈恵会医科大学)
山岸 敬幸 (慶應義塾大学)
Thu. Jul 16, 2015 9:00 AM - 10:30 AM 第3会場 (1F ペガサス C)
I-S04-01～I-S04-06
所属正式名称：南沢享(東京慈恵会医科大学　細胞生理学講座)、山岸敬幸(慶應義塾大学医学部　小児科)

[I-S04-02]Single Cell cDNAと次世代シークエンサーを用いた心筋前駆細胞特異的表面マーカーの同定

○石田 秀和[1,2], 小垣 滋豊[2], 大薗 恵一[2], 八代 健太[1] (1.ロンドン大学クイーンメアリー校　ウイリアムハーベイ研究所,　2.大阪大学大学院医学系研究科　小児科学)
Keywords:心筋前駆細胞, ES細胞, CRISPR/Cas9

(背景)
心臓の初期発生において、側板中胚葉から心筋系統への運命決定のタイミングやメカニズム、心筋前駆細胞の細胞生物学的特徴には未だ不明な点が多い。その理由の一つとして心筋前駆細胞特異的表面マーカーが存在しないことが挙げられる。もしそれが同定されれば、心筋前駆細胞のみを識別・単離することでより詳細な解析を行う事が可能になるとともに、心不全患者に対し iPS細胞由来の心筋前駆細胞を用いた細胞移植治療への応用も視野に入る。
(方法と結果)
我々はまず、マウス7.5日胚の心臓前駆領域を顕微鏡下で剥離したのち酵素処理し、得られた単一細胞から single cell cDNAライブラリーを作成した。この中で転写因子*Tbx5*と*Nkx2.5*を発現している心筋前駆細胞の cDNAを選択し、次世代シークエンサーを用いて網羅的発現プロファイルを取得、心筋前駆細胞で発現が上昇している細胞表面蛋白*CSA11*（仮称）を同定した。マウス初期胚の Whole mount in situ hybridizationと免疫組織染色にてCSA11は心臓前駆領域に発現しており、マウス ES細胞からの心筋分化誘導系においても、自己拍動開始直前に一過性の発現ピークを認めた。さらに fluorescence activated cell sorting (FACS) を用いて心筋分化途上のマウス ES細胞から CSA11陽性細胞を収集した所、高率に心筋細胞へと分化する事を確認した。次に CRISPR/Cas9システムを用いて*CSA11*とそのファミリー蛋白のダブルノックアウト(DKO) ES細胞、さらに DKOマウス胚を作成した所、心筋細胞分化が著しく抑制されており、 CSA11は心筋分化において重要な役割を果している事が明らかになった。また、ヒト ES/iPS細胞を用いた心筋分化誘導系においても CSA11は発現しており、ヒト心筋前駆細胞をFACSで単離して培養できる事が明らかとなった。
(結論)
CSA11は心筋細胞分化に重要な役割を果たすとともに、マウスおよびヒトにおいて、心筋前駆細胞表面マーカーとして利用できる。

©Japanese Society of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery