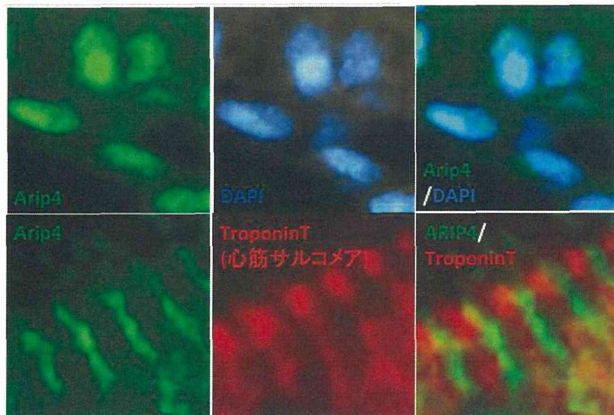


(図16) ARIP4 KOでは心室壁形成の異常が生じ、粗く細長い、菲薄した心筋層構造を呈する。この表現型は、ヒト男性優位に発症する心筋緻密化障害に酷似している。



(図17) ARIP4タンパク質の心筋細胞における局在。初期胚では細胞核で非常に強く発現しており、NKX2-5やNPPA、NOTCHシグナル因子の発現制御を行うことが分かっている (Ogawa, Koshiba-Takeuchi et al., in preparation)。発生が進むと心筋サルコメアにおいても発現する (図17下段)。

### 3：心筋再生と心機能向上を目指したアプローチ

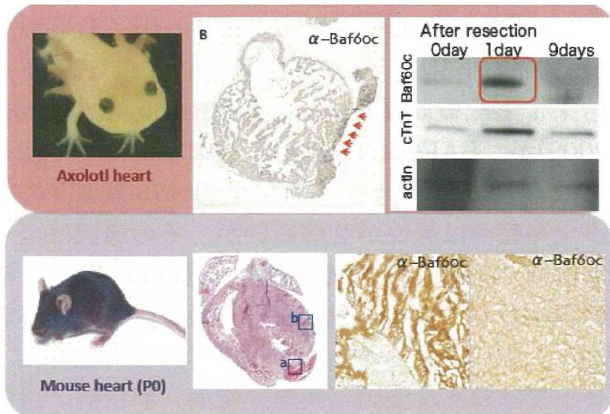
哺乳類の心臓は再生不可能と考えられていたが、マウス出生後、数日以内ならば心筋のみならず心機能も回復することが報告された (Porrello et al., *Science* 2011)。ヒト心筋においても毎年1% (10歳代では約2%、70歳代だと0.5%)が renewal されている (Bergmann et al., *Science* 2009)。しかしながら、どのような因子が心臓再生に関わるのかについては明らかにされていない。また、心臓再生に関わる主たる細胞は心筋細胞とされているが、他の細胞の関与についてはよく分かっていない (Kikuchi et al., *Nature* 2010)。

興味深いことに、上述の mRNA スクリーニングの結果と既知のクロマチン因子群 (van Weerd et al., *Cardiovas.Res.* 2011; Takeuchi et al., *Nature Commun.* 2011) が心筋誘導時に発現し成体後に減少することを見出した。その中でクロマ

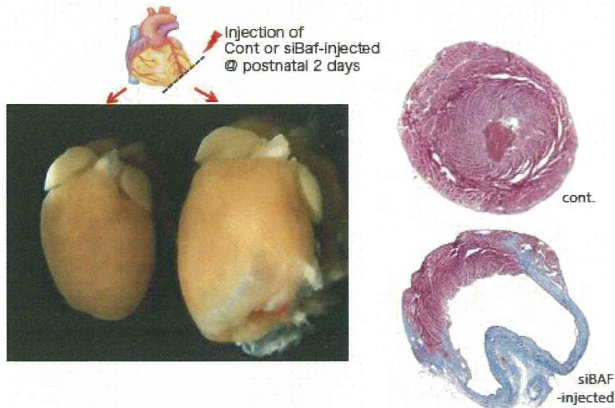
チン因子である Brg1-BAF60C の心臓特異的強制発現 (BAF-TG) マウスを作製したところ、心筋梗塞後の心不全を抑制する結果を得た (前述: 図10)。

この結果は心臓再生にBAF因子の発現が重要となる可能性を示唆しており、本研究項目3では再生時におけるエピジェネティック因子に着目することにより、心筋再生および心機能回復を目指したアプローチを行った。

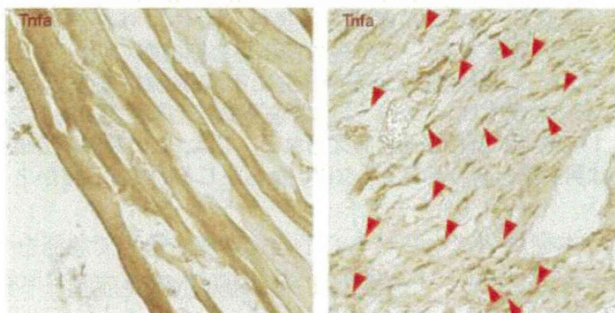
再生能力の高い有尾両生類の心臓再生時、および、新生児マウス心臓再生時においても一過的にクロマチン因子BAF60Cの発現が亢進する (図18)。siBAFを投与されたマウスでは心臓再生能の脱落が見受けられ、線維化が生じることが示された (図19)。また、再生に深く関与すると推測されている胎児期遺伝子Gata4/Tbx5の発現が減少し、心筋マーカー遺伝子の発現も重度に減少していた。一方、炎症性因子TNF $\alpha$ の発現は亢進していた (図20)。反対に、BAF60Cを強制発現させると心筋増殖活性が亢進し、心筋シート様構造を形成することが明らかとなった (図21: 慶應大学医学部循環器内科福田恵一教授との共同研究)。細胞内でのシグナル変化についてqPCR法を用いて調べたところ、細胞増殖抑制因子であるp57kip2およびp27kip1の発現が減少しており、BAF60Cはこれらの発現を抑制することで心筋細胞増殖を活性化していると考えられる (図22)。生体においても同様にBAF60Cの強制発現を行い、心筋再生時に因子群のゲノム構造変換を伴って心筋再生を活性化するのか、ChIP法を用いて解析した。これにより幾つかの心筋遺伝子プロモーター領域でエピジェネティックな変化を見出した (図23)。一連の結果から、哺乳類の再生能力低下は、心筋細胞の成熟に伴ってクロマチン構造の安定性が強化されたことによる転写環境の変化 (閉塞) が原因と考えられ、BAF60Cがその環境変化のKey因子であることが示唆された (考察参照)。現在、投稿に向けて共同研究者との協議中である (Nakamura, Koshiba-Takeuchi et al., *in preparation* 2014: 特許申請に関しては、東大TLOと協議中)。



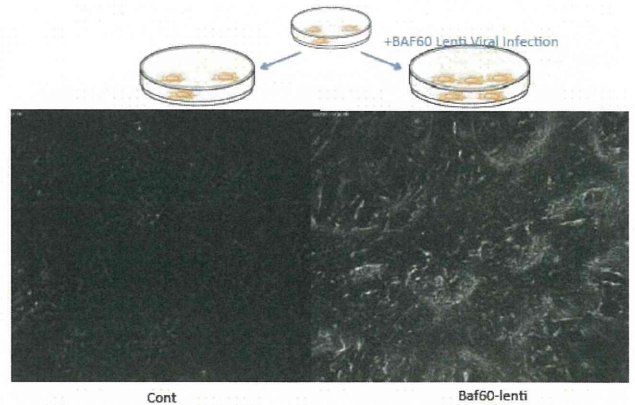
(図 18) 再生能の高い有尾両生類アホロートルとマウス新生児での心臓切除後のBAF60Cタンパク質の蓄積。B: 切除後1日以内にBAF60Cタンパク質の亢進が見受けられる。下段: マウス新生児における心臓切除実験においても同様にBAF60Cの亢進が見受けられる。BAF60Cの発現誘導は切除部位近傍で起こり(a)、遠部(b)では誘導されない。右上: BAF60Cタンパク質は心臓切除9日後には減少する。



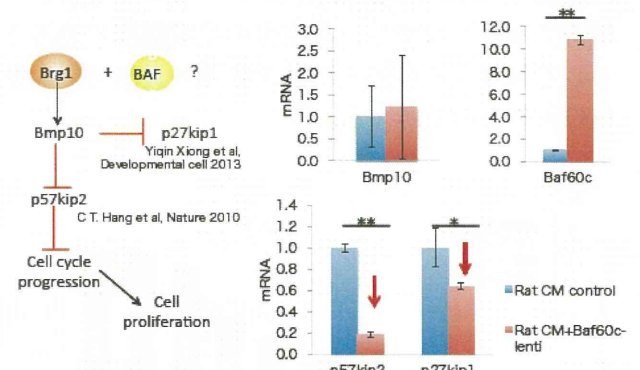
(図 19) siBAFを投与すると、心筋再生が阻害され、結果として線維化様態が形成される(右下)。siBAFはlife technologiesより購入、導入部位の確認のためにEGFP発現プラスミドと共遺伝子導入を行っている。



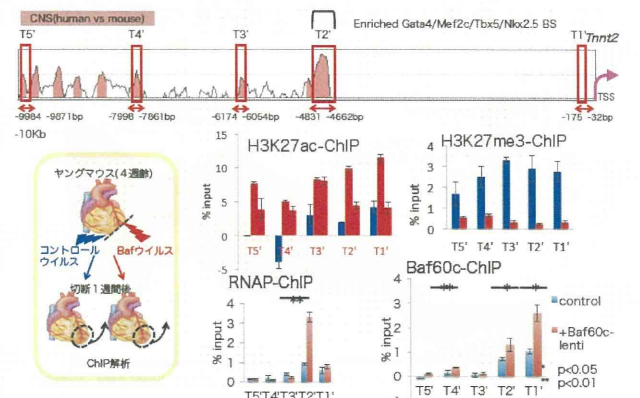
(図 20) 左: 再生が進んだ、コントロール心臓。右: siBAF投与された心臓ではTNF $\alpha$ タンパク質の蓄積が見受けられる。茶色の固まりはTNF $\alpha$ が蓄積した心筋。左のコントロール心臓で見受けられる薄茶色は非特異的なシグナル。



(図 21) ラット新生児心筋を用いたBAF60Cの強制発現。左: 通常的心筋培養ではコロニーは形成するものの、心筋増殖より線維芽細胞の増殖活性が高い。右: BAF60C投与された心筋初代培養ではシート様構造の拍動を伴った機能性心筋が形成される。



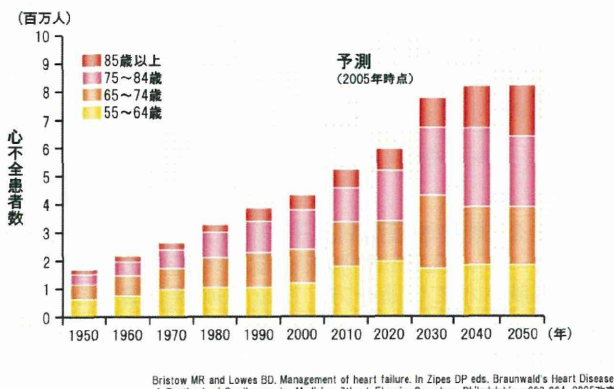
(図 22) 細胞増殖抑制因子p57kip2/p27kip1シグナルカスケード。BAF60C強制発現下で両方の遺伝子が顕著に抑制されている一方、Bmp10の発現変化が無い。これによりBAF60Cは特定の遺伝子を制御していることが分かる。



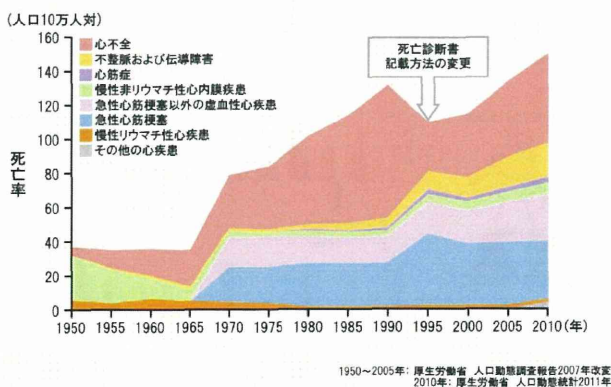
(図 23) BAF60C依存的にヒストン修飾変化を受けるTNNT2(心トロポニン)ゲノム領域。BAF60C存在下では、心トロポニンのプロモーター領域のヒストンH3K27のアセチル化が亢進し、トリメチル化が抑制される。ポリメラーゼIIが効率よくリクルートされ、その領域ではBAF60Cタンパク質もリクルートされていることが分かる。青: コントロール心臓、赤: BAF60C投与心臓。

#### 4：性別・年齢に基づいたバイオインフォマティクス解析系の改良

慢性心不全は米国で約 650 万人 (図 2 4)、日本において心疾患原因による死亡者の約 45% が心不全であり (図 2 5)、全体死亡者の 8% (平成 21 年度厚労科研白書) を占めている。そのため、心不全への移行をプロテクトする、または緩和させるアプローチの開発が急がれている。心不全については多くの基礎研究がなされているが、遺伝要因、リスクファクター等様々な要因が相乗的に関与して発症するため、原因究明が困難とされている。本研究は都立健康長寿研究センター豊田雅士室長と京都府立医大循環器内科学五條理志教授との共同研究を行うことで、詳細なカテゴリー分け (性別/年齢/既往歴) とエピジェネティックな制御に着目しながら、心不全の発症原因に迫ろうとしており、その結果は臨床応用へ貢献可能な意義のあるものとする。



(図 2 4) 米国における心不全患者の推移および予測

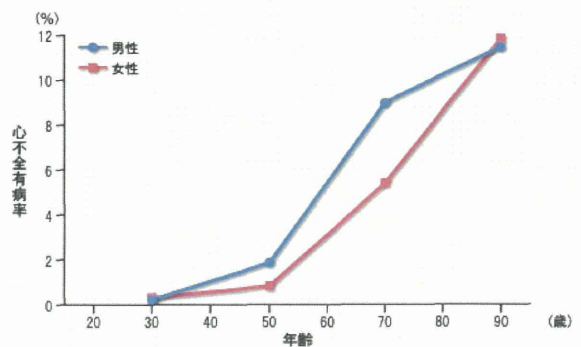


(図 2 5) 国内の各心疾患の死亡率の推移

心筋は成熟するに連れて細胞分裂や増殖、及び環境の変化に対抗する能力を失っていく。それが可塑性の脱落とも考えられている。可塑的な機能の消失は、心不全に結びつくと推測される。

この可塑性の維持にはクロマチン因子 BAF60C が必要であるという結果を報告してきた (本研究結果; 上記概既述; Takeuchi&Bruneau, *Nature* 2009) が、BAF60C を制御する因子については未だ報告されていない。さらに、40~75 歳までの心不全発症率は男性が 2 倍高いが、その原因は全く未解明である。(図 2 6: 女性赤色/男性青色)。その理由として遺伝子発現解析結果では男女差が乏しく、判別が難しいためと推測される。さらに、ヒトでは様々な要因 (喫煙/肥満/糖尿病/遺伝...) が複雑に絡み合っており、各々別個に統計を作製する必要があるとも考えられる。

以上のことから、本研究の mRNA アレイ結果は大まかな発現傾向を得るのには適しているが、粗データである可能性が高い。よって、心不全 Key 因子を単離・同定するには、まずは上記要因を加味して詳細なグループ分けを行い、それぞれのグループにおける RNA シーケンス、microRNA アレイ、ChIP シーケンスなどのバイオインフォマティクス解析により比較検討することが求められる。



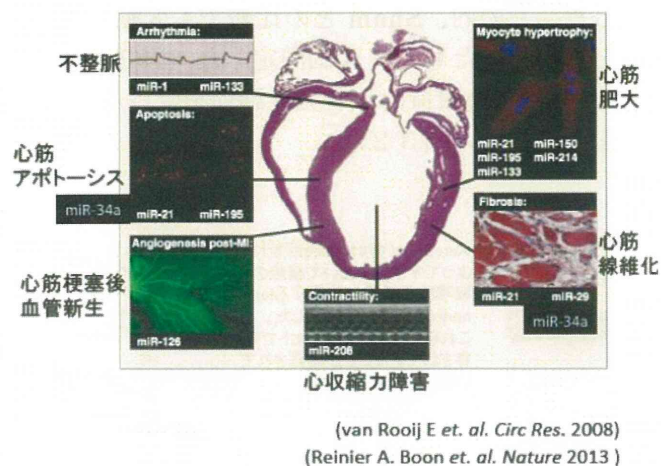
(図 2 6) 40~75 歳までは男性が女性より 2 倍高く心不全を発症する。この差は陳旧性心筋梗塞(OMI: 男女比 = 2 : 1) 発症歴と心筋症 (主に不整脈源性右室心筋症 ARVC: 男女比 = 3 : 1、および左室緻密化障害: 男女比 = 2 : 1) の発症に起因すると考えられる。では、この発症率の相違は男女間心筋のどのような違いから生じるのであろうか?

本研究 4 では、ヒト心不全を理解する上で急務を要するカテゴリー: 陳旧性心筋梗塞(OMI)発症歴と不整脈源性右室心筋症(ARVC)に焦点を当て、①遺伝子解析 (miRNA アレイ/RNA シーケンス) と②プロテオーム解析を用いることにより、研究を遂行した。

#### ①: miRNA アレイからの候補因子の選出

我々は、OMI と ARVC に着目してエピジェネティック研究を行っていく過程で、RNA サイレンシングが

疾患発症の大きなリスクファクターになっていると考えた。RNAサイレンシングは細胞の恒常性の維持に関与していると言われている。miRNAと疾患の関係について、最も研究が進んでいるのは癌の分野であるが、近年、miRNAと心疾患の関係も報告されている。図27に示すように、miR-29が関与する心臓の繊維化 (van Rooji E et al., *PNAS* 2008) や miR-34 が関与する心臓の老化 (Boon RA et al., *Nature* 2013) などが例として挙げられる。しかし、miRNAと心疾患の性差に着目した研究は行われていない。先述のように遺伝子発現解析では顕著な男女差が見受けられないことから、男女差を生じる原因は、miRNAの挙動やその後の発現制御の影響による心筋群にあると我々は考えている。そこで、miRNAアレイおよびRNAシーケンスを用いてヒト心不全患者の心筋組織のトランスクリプトーム解析を行うことにより、男女間のmiRNA発現の違いが心不全発症の性差に与える影響を検討する。また、それによって得られた情報をもとに、病態解析の進んでいないARVCなどの発症にエピジェネティックな修飾がどのように作用しているか明らかにしていく。



(図27) 心肥大・心不全発症に関与するとされるmiRNA群。これまで、性差・年齢と心不全を結びつけるmiRNAの報告は無い。

70歳代男女の心不全発症患者の心筋(東京都健康長寿医療センター研究所にて採取した病理組織)からmiRNAアレイを行ったところ、男性と女性共通に発現変化するmiRNAのみならず、性別により異なった挙動を示すmiRNAが存在することが明らかとなった(図28)。図29に示すように、4因子について着目しており、2つにおいては心臓研究以外での報告がされ

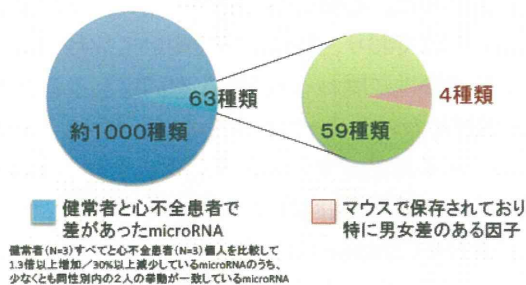
ている。これまでの国内外の研究から男女心不全患者におけるRNA分子の発現異常について研究報告された例は無く、申請者のグループのみが初めて報告する。心不全の治療法としては、患者の心臓機能を悪化させず、できる限り心不全悪化を防止し、かつどれだけ回復を早められるかが、最大の重要課題であると考えられる。この先行研究結果は、男女間で心不全に至る過程で異なるメカニズムが存在する可能性を示唆しており、さらには心不全緩和に向けた男女別創薬研究に大きく貢献するものと考えられる。

## ②: 心筋再生因子BAF60C機能阻害因子の探索

BAF60Cは心筋再生のKey因子であるが、出生に伴い発現が抑制される。そこでBAF60Cを抑制する因子を同定することにより、その阻害作用を解除する方法を明らかとし、心疾患時の心筋の可塑性、回復力に繋がると考えた。上記スクリーニングの結果からmiR182と他に興味深い動向を示すmiR Xが単離された(図30)。miR182は心臓発生が進むにつれて発現量が増し、BAF60Cの発現と対照的であることから、非常に期待される。

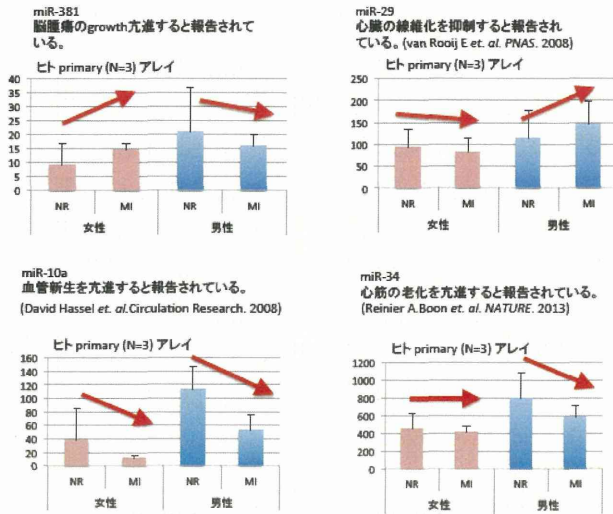
ヒトのmiRNA(約1000種類)から心不全患者で性差のあるmiRNAをアレイデータを元にスクリーニングした

ヒト primary (70代)		
健常者(NR)	男性	N=3
	女性	N=3
心不全患者(MI)	男性	N=3
	女性	N=3



- ・ 健常者と心不全患者でmiRNAの発現パターンが異なるmiRNAがある
- ・ 心不全患者でも男女で発現パターンが異なるmiRNAがある

(図28) ヒト心不全 miRNAアレイで単離された1000種類の候補miRNAから、ヒト・マウス・ラット間で保存され、かつ性別で発現量に差のあるmiRNA。



(図 29) 性別によって発現が異なる miRNA 因子。



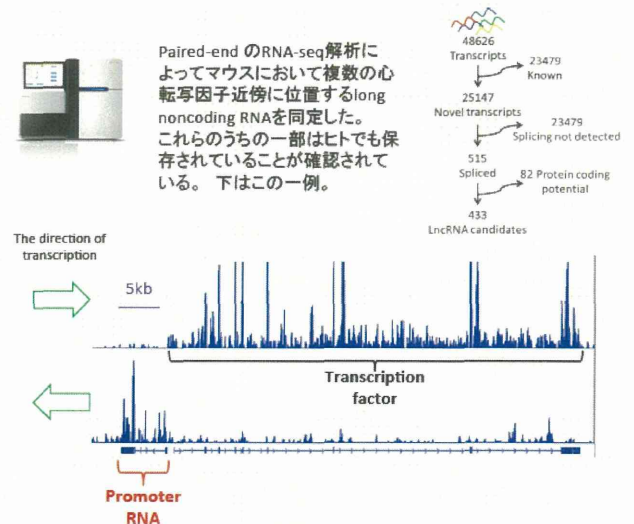
(図 30) マウス胎生期と出生後における miR182 の発現は雌雄によって発現パターンが異なる。BAF の発現も雌雄によって異なる。

### ③: RNA シーケンスを用いた lncRNA の単離

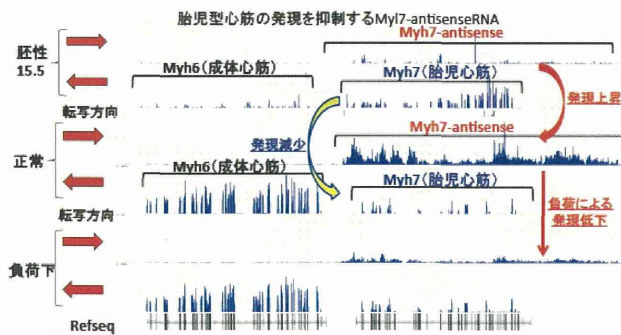
次に大動脈を結索した心負荷マウスを用いて、心負荷時に発現変動する non-coding RNA (ncRNA) をスクリーニングした。心負荷時に心筋が胎児型に巻き戻ることが知られており、胚性心臓を用いて比較することで、心筋可塑性に関わる ncRNA を同定しようと考えた。ncRNA のスクリーニングのため、RNA シーケンスとバイオインフォマティクス解析法を立ち上げた。

組織からの RNA 抽出はナカライテスク社の Sepasol-RNA I Super G(1)を用い、クリーンアップに Macherey-Nagel 社の Nucleospin RNA XS を用いた。cDNA ライブラリ作成は rRNA などを total RNA から取り除く kit である Epicentre 社の Ribo-Zero Gold (Human/Mouse/Rat) と、Illumina 社の Truseq Stranded mRNA sample prep kit を用いた。これにより、どちらの鎖から RNA が転写されているかを知ることが可能である。Illumina HiSeq 2000 を用い、シーケンス長 101 base、Paired-end read でシーケンシングを行った。Paired-end とは cDNA ライブラリの各フラグメントに対し、両端からシーケンスを行うこ

とであり、Single-end の場合に比べてはるかに詳細で正確な転写産物の再構成が可能である。遺伝子発現変動解析ソフト Cuffdiff を用い、gene model を再構築するソフトウェア Cufflinks による転写産物の再構成の結果、全サンプル合わせて 48,626 個の転写産物単位を得た。この内、Refseq 中の既知遺伝子と一致するものが 23,479 個であり、残りの 25,147 個は未知転写産物と考えられる。更にこの未知転写産物の内で、Splicing が検出され、タンパク質に翻訳されないと推定されるものが 515 個存在した。Splicing を機能的な long non-coding RNA (lncRNA) の基準の一つとしたのは、既知の機能的な lncRNA のほとんどが splicing を受けていること、splicing を検出できない程度の発現量/read 数の遺伝子は実際に機能解析を行うことが難しいであろうと考えた。また、翻訳能に関しては *ensembl* の基準に従い、ORF が全長の 35% 以上のものを翻訳され得る (<http://asia.ensembl.org/info/genome/genebuild/ncrna.html>)。82 個がこれに該当し、残る 433 個が心臓において機能する lncRNA の最終的な候補となった。発現量の比較により lncRNA 候補の発現を発現量変化が 4 倍以上であるものを 83 個同定した。この内、Sham との比較でも変動していると判定されたものを 6 個同定した (図 31 参照)。その中で、心負荷により発現調節を受ける ncRNA を同定した (図 32)。



(図 31) バイオインフォマティクス解析を用いた ncRNA スクリーニング

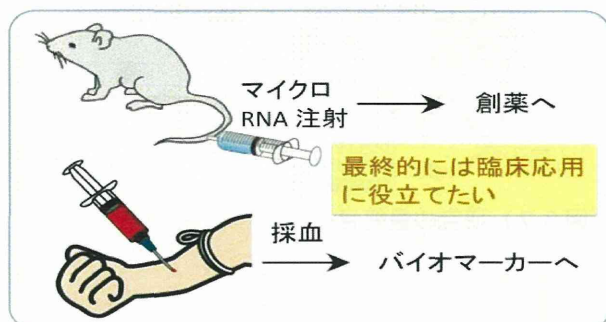


(図 3 2) 心筋成熟に伴って発現亢進する Myl7ncRNA

#### 【D. 考察】

本研究により、心不全患者から作成された遺伝子発現プロファイルを元にエピジェネティック因子が単離され、各々に機能が明確化されてきた。各々が心臓発生に重要な機能を担っていることを報告でき、モデルマウスをプロデュースできた。しかし、単離されたすべての候補因子について研究論文としてまとめるまでには至らなかった。今年度に①Brg1 KO、②BAF60C 恒常発現解析、③Dnmt1 KO、④miRNAs に関する研究を報告することを目指す。さらに、どの程度特定のゲノム構造に変化をもたらすのか、ChIP シーケンスを用いた解析系を立ち上げる必要性があり、今後の中心的な課題である。

さらに、今後の課題はどのように心筋再生能を高めるか、恒常因子を見いだすのか、であると考えている。本研究3により BAF60C が心筋の増殖活性を亢進し、炎症作用を抑制するなど萌芽的な結果が見いだせた点は大きい。BAF60C がどのような因子によって誘導を受け、発現抑制されるのか課題が残されたが、本研究によって単離された miRNA は一つの候補であると考えている。



(図 3 3) miRNA を用いた臨床応用概念図

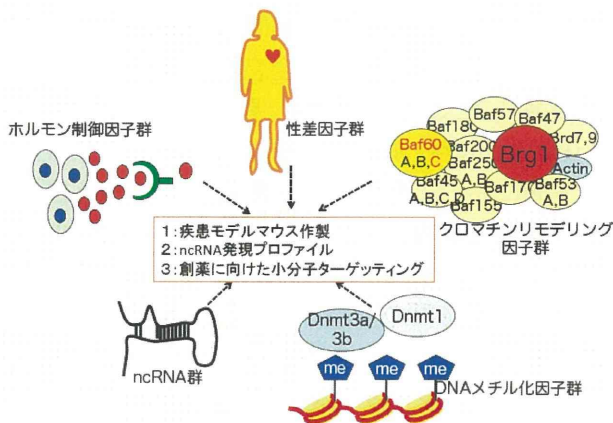
本研究期間内に生じた疑問を発展させ、詳細にグループ分けをして心不全患者プロファイル作成に成功したことにより、男女で発現の異なる miRNA が存在することを見出した。マウス・ラット間においても保存された miRNA が存在し、かつ、発生過程においても興味深い発現変化をしていることも明らかとなった。本研究結果により、miRNA の発現のみならず、ゲノム修飾や構造変換においても性別による相違が存在すると考えられる。ChIP シーケンスを駆使することで、性差により発現の異なる遺伝子や ncRNA の存在理由という本疑問を解決しうるものと考え、今後の課題の一つとして取り組んでいく。

本研究で作製されたモデルマウスは疾病研究に有効である。本年度内に全てプロデュースすることを目指す。それとともにバイオインフォマティクス解析系を立ち上げられた点は、今後のゲノム解析において有意義な研究を期待できる。両結果は、本研究により構築できた点であり、ヒト心不全で発現変化する miRNA に関しては早急にプロファイルし国際論文に報告する。

性差医学に貢献することにより、男女別の創薬・処方提案ができる。現在、心不全を軽減する製剤として利尿薬やジギタリス製剤が一般的に使われているが、有効な治療薬ではない。また、男女の薬効の差を考慮したものでもない。しかし、本研究により、男女で選べる治療法を新たに提案することができる。本研究を成し遂げるにより、生物学的特性の理解や、診断・治療・病態把握・予後予測といった臨床応用の現状と問題の解決に役立つと考えられる。

#### 【E. 結論】

本研究は心不全患者の遺伝子プロファイル解析から始まり、3年間で4つの興味深い点と発展性のある萌芽的結果が明らかとなった(図34:まとめ図)。さらに性差特異的な、または性別で発現が異なる因子を同定することができた。



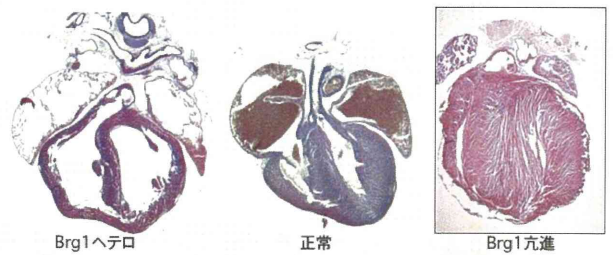
(図3 4) 本研究のまとめ図。クロマチン構造変換因子群、DNAメチル化因子群、性差ホルモン制御因子群、ncRNA群が心不全患者のプロファイルから興味深い結果をもたらした。

①SWI/SNF-BAF クロマチンリモデリング複合体:SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体のコア因子 Brg1 の発現減少または消失が拡張型心筋症・不整脈発症に重要な意味をもっており、心特異的なクロマチン因子が先天性心疾患の重篤性に深く関与している事を世界で始めて報告出来た (図3 5)。BAF60C 恒常的発現(TG)マウスでは、MI(心筋梗塞)後の線維化が抑制され、機能心筋で覆われており心不全が抑制されていた、心筋再生には特異領域でのクロマチン構造の変換が重要である事が示唆された。

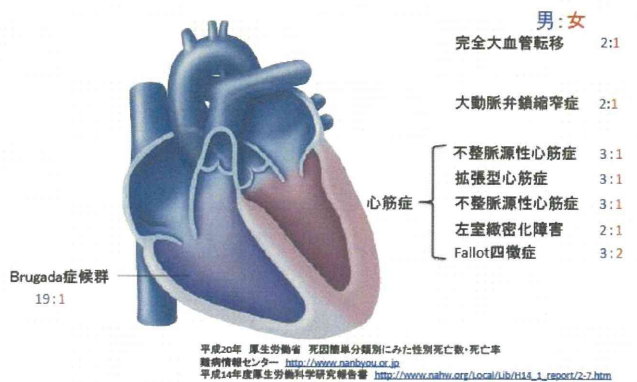
②DNA メチル化因子: ヒト心不全患者では DNA メチル化因子 Dnmt1の極度の発現減少が見受けられ、心負荷マウスを用いて Dnmt1/3a/3b の発現変化を時系列的に解析してきた。さらに、各々遺伝子破壊マウス(KO)を作製したところ、Dnmt1KO マウスでは心筋分化亢進が見受けられ、Dnmt3aKO マウスでは心エコーにより心室筋収縮異常が確認された。

③男性ホルモン結合因子: Arip4がアレイプロファイルから単離され、遺伝子破壊マウスを作製したところ、心筋がスポンジ状形態を呈し左室緻密化障害を発症している事が分かった。Arip4はエピジェネティック因子 (特にSWI/SNF型クロマチン構造変換複合体) と共役することから、後天的な心不全 (特に心筋症) リスクを高める因子としても着目している。男性優位に発症する疾病の理解につながるものと考えられる (図3 6)。

④miRNA/lncRNAの単離: 性別によって発現の異なるRNAの単離に成功した。バイオインフォマティクス解析の構築に半年かかったが、これによりヒト疾患において発現変化する全てのRNAを網羅的に単離可能となる。心疾患および心臓発生における機能解析を出来る限り早急に行う。



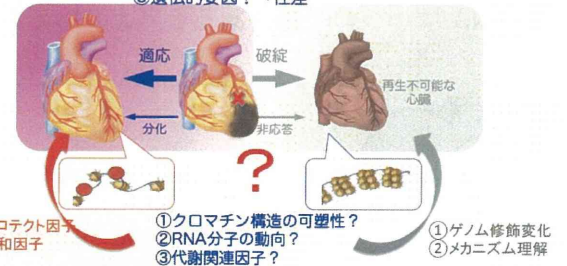
(図3 5) Brg1の発現量がクリティカルに心臓疾患に関与する



(図3 6) ヒト男性優位で発症する心筋症一覧

心不全発症において何が細胞内で起っているのか? 全て同じなのか?

- ①起因? →心筋梗塞vs心筋症
- ②老化? →年齢
- ③遺伝的要因? →性差



(図3 7) 研究の最終目標

## 【F. 研究発表】

### 1. 論文発表

- (1) Kondoh S, Inoue K, Igarashi K, Sugizaki H, Shirode-Fukuda Y, Inoue E, Yu T, Takeuchi JK, Kanno J, Bonewald LF, Imai Y. Estrogen receptor  $\alpha$  in osteocytes regulates trabecular bone formation infemale mice. *Bone*,60:68-77, 2014
- (2) Xu B, Hrycaj SM, McIntyre DC, Baker NC, Takeuchi JK, Jeannotte L, Gaber ZB, Novitch BG, Wellik DM., Hox5 interacts with Plzf to restrict Shh expression in the developing forelimb., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 26:110(48):19438-19443, 2013
- (3) van Weerd JH, Koshiba-Takeuchi K, Kwon C, Takeuchi JK., Epigenetic factors and cardiac development., *Cardiovascular Res*. 15:91(2): 203-211, 2011
- (4) Takeuchi JK, Lou X, Alexander JM, Sugizaki H, Delgado-Olguín P, Holloway AK, Mori A, Wylie JN, Munson C, Zhu Y, Yu-Qing Zhou9, Ru-Fang Yeh6, Henkelman RM, Harvey RP, Metzger D, Chambon P, Stainier DYR, Pollard KS, Scott IC, &Bruneau BG., Chromatin Remodeling Complex Dosage Modulates Transcription Factor Function in Heart Development., *Nature Communications* 1187, 1-11, 2011

### 2. 学会発表

#### A: 招待講演

- (1) 竹内純、哺乳類心臓再生能力が維持されるには？、第91回日本生理学会大会(鹿児島)、2014.3.17
- (2) 竹内純、ヒト心疾患発症に関わるエピジェネティック因子群と心不全予防を目指して、第17回日本心血管内分泌代謝学会(大阪)、2013.11.22
- (3) 竹内純、哺乳類心臓再生が維持されるには？、第35回日本心臓生検研究会(東京)、2013.11.3
- (4) 竹内純、heart cell survival by defined factors., *European Society of Cardiology (ESC) Berlin Cardiovascular Development Meeting 2013 (Berlin, Germany)*, 2013.9.27
- (5) 竹内純、心臓再生はどのようにして可能となるのか？、日本動物学会第84回岡山大会2013(岡山)、2013.9.26
- (6) 竹内純、エピゲノムからみた心筋生存と心臓再生

- どうすれば強い心筋が生まれるのか？-、*Merk Millipore BioScience Forum 2013 (東京)*、2013.9.10
- (7) 竹内純、心疾患発症重篤化とエピジェネティック因子の制御、第53回日本先天異常学会学術集会(大阪)、2013.7.21
- (8) 竹内純、Heart cells survival by the defined factors., 第7回TAKAO International Symposium (東京)、2013.7.15
- (9) 竹内純、心臓の機能的再生におけるクロマチン変換とゲノム修飾、第28回難病治療研究会(東京)、2013.7.10
- (10) 竹内純、細胞の個性が決まるとき、運命が変わるとき、大阪大学生命機能研究科セミナー、2013.4.30
- (11) 竹内純、Epigenetic Factors in Cardiac Development and Regeneration., 第7回日仏先端科学(JFFoS)シンポジウム(滋賀)、2013.1.25
- (12) 竹内純、心疾患重篤化と心臓再生に関わるエピジェネティック因子群、奈良県立医科大学セミナー(奈良)、2012.12.26
- (13) 竹内純、心臓再生能力を司るクロマチン結合制御因子群、第33回日本炎症・再生医学会(福岡)、2012.7.5
- (14) 竹内純、クロマチン因子から見る心臓再生と心筋可塑性、第55回日本腎臓学会学術総会(横浜)、2012.6.1
- (15) 竹内純、心臓構成細胞の運命決定と分化可塑性、次世代医学セミナー・ワークショップ(福島)、2012.2.28
- (16) 竹内純、心筋細胞を創るプログラム因子と護るリモデリング因子、第6回フロンティアサイエンス機構サイエンスセミナー(金沢)、2012.2.20
- (17) 竹内純、心臓発生と心筋分化誘導のマスター因子、第41回日本心脈管作動物質学会シンポジウム(秋田)、2012.2.11
- (18) 竹内純、Epigenetic control of animal development and organogenesis., 第34回日本分子生物学会年会 シンポジウム(横浜)、2011.12.13
- (19) 竹内純、Rate-limiting Function of Chromatin/Histone Modulators for Cardiac Specification., *The 28th Annual Meeting of the International Society for Heart Research Japanese Section(東京)*, 2011.12.3
- (20) 竹内純、心疾患発症とエピジェネティック因子群、大阪大学蛋白質研究所セミナー (大阪)、2011.11.17
- (21) 竹内純、心臓を造る因子と護る因子、東京医科歯科大学難治疾患研究所セミナー「難治疾患共同研究拠点



事業」、2011.10.21

(22) 竹内純、小柴和子、塚原由布子、森田唯加、中村遼、山田小和加、横田直子、マウスが紐解く心臓研究のアプローチ、日本遺伝学会第83回大会(京都)、

2011.9.22

(23) 竹内純、心臓誘導と心疾患：エピジェネティック因子群の機能解析からわかったこと、第5回神戸生活習慣病研究会(神戸)、2011.7.24

(24) 竹内純、エピジェネティクスと心臓研究、第13回アテロジェネシス研究会(岐阜)、2011.7.20

(25) 竹内純、ISSCR 9th Annual Meeting (Toronto, Canada), 2011.6.18

(26) 竹内純、Chromatin Remodeling and Heart Cell-Fate Specification., 熊本大学発生医学研究所GCOEシンポジウム、2011.4.20

(27) 竹内純、心疾患発症におけるエピジェネティクス因子群、日本医学総会(東京)、2011.4.8

## B : 関連発表

(1) 塚原由布子、竹内純、心筋リプログラムにおける心筋タイプ特異的な誘導方法の検討、第13回日本再生医療学会総会(京都)、2014.3.4

(2) Kazumi Hirabayashi, Yuika Morita, Yuko Tsukahara, Hiroe Sugizaki, Hatsune Makino, Kazuko Koshiba-Takeuchi, Jun K. Takeuchi, Origin and specification of pacemaker cells in murine heart., 第36回日本分子生物学会年会(神戸)、2013.12.4

(3) Ryo Nakamura, Kazuko Koshiba-Takeuchi, Yuko Tsukahara, Tetsuya Asano, Yutaro Hori, Yuki Ando, Mizuyo Kojima, Tetsushi Furukawa, Hesham A Sadek, Jun K Takeuchi, Epigenetic regulation promotes mammalian heart regeneration., ISHR (国際心臓研究学会)(San Diego, USA), 2013.6.29

(4) Yuika Morita, Yuko Tsukahara, Peter Andersen, Junko Kurokawa, Hiroe Sugizaki, Ryuichi Nishinakamura, Tetsushi Furukawa, Chulan Kwon, Kazuko Koshiba-Takeuchi & Jun K. Takeuchi, A novel defined factor specifies cardiac-vascular cell fate and promotes heart regeneration

新規転写因子による心臓-血管運命決定と心臓再生、第46回日本発生生物学会大会(島根)、2013.5.29

(5) Yuika Morita, Kazuko Koshiba-Takeuchi and Jun K. Takeuchi, Direct Differentiation from Pluripotent Stem Cells to Cardiac Lineages by Defined Factors., 2013 Weinstein Conference

(Arizona, USA), 2013.5.17

(6) 山田小和加、竹内純、Dnmt1 specifically functions in heart development and maintenance., 第35回日本分子生物学会年会(福岡)、2012.12.11

(7) 森田唯加、塚原由布子、Peter Anderson, 黒川旬子、杉崎弘江、小島瑞代、相賀裕美子、西中村隆一、古川哲史、Hesham Sadek、Chulan Kwon、小柴和子、竹内純、新規心臓転写因子による心臓細胞運命決定と機能的な心臓再生、第35回日本分子生物学会年会(福岡)、2012.12.11

(8) Yuika Morita, Jun K. Takeuchi, Sa+ Cells, a Novel Cardiac Lineage, Promote Heart Program and Its Regeneration., 第29回国際心臓研究学会(ISHR) 日本部会総会(福岡)、2012.10.26

(9) 森田唯加、塚原由布子、Anderson Peter、黒川旬子、杉崎弘江、相賀裕美子、西中村隆一、Kwon Chulan、古川哲史、小柴和子、竹内純、特定転写因子による心臓幹・前駆細胞運命プログラム機構、第11回日本心臓血管発生研究会(福島)、2012.10.19

(10) 中村遼、小柴和子、塚原由布子、笹野哲郎、安藤由貴、小島瑞代、富田江一、古川哲郎、Hesham A Sadek、竹内純、心筋再生におけるエピゲノム制御機構、第11回日本心臓血管発生研究会(福島)、2012.10.19

(11) Kazuko Koshiba-Takeuchi, Ryo Nakamura, Tetsuo Sasano, Yuko Tsukahara, Sawaka Yamada, Mizuyo Kojima, Tetsushi Furukawa, Hesham A. Sadek, Jun K Takeuchi, Fetal epigenetic modifiers stimulate cardiomyocyte regeneration and protect fibrosis in mammalian/amphibian models., 第10回国際幹細胞学会(ISSCR)年次総会(横浜)、2012.6.14

(12) Yuika Morita, Yuko Tsukahara, Peter Andersen, Junko Kurokawa, Hiroe Sugizaki, Sylvia Evans, Yumiko Saga, Ryuichi Nishinakamura, Tetsushi Furukawa, Chulan Kwon, Kazuko Koshiba-Takeuchi & Jun K. Takeuchi, Sall promotes cardiac progenitor cell fate and fully contribute to cardiomyocyte lineages., 第10回国際幹細胞学会(ISSCR)年次総会(横浜)、2012.6.14

(13) 中村遼、小柴和子、塚原由布子、竹内純、心臓再生向上因子としてのクロマチン制御機構、第11回日本再生医療学会総会(横浜)、2012.6.13

(14) 森田唯加、塚原由布子、小柴和子、竹内純、Sallは心臓前駆細胞必須因子として全心臓細胞系譜を制御

する、第11回日本再生医療学会総会(横浜)、2012.6.13  
(15) Ryo Nakamura, Kazuko Koshiba-Takeuchi, Yuko Tsukahara, Mizuyo Kojima, Jun K Takeuchi, Epigenetic factors and the capacity for heart regeneration in mammals., 第45回日本発生生物学会(神戸)、2012.5.28

(16) Yuika Morita, Yuko Tsukahara, Peter Andersen, Hiroe Sugizaki, Ryuichi Nishinakamura, Chulan Kwon, Kazuko Koshiba-Takeuchi, Jun K. Takeuchi, Cell-Fate Specification of Cardiac Progenitors/Stem Cells by Defined Factors in vivo and in vitro., 第45回日本発生生物学会(神戸)、2012.5.28

(17) Yuika Morita, Yuko Tsukahara, Peter Anderson, Junko Kurokwa, Hiroe Sugizaki, Ryuichi Nishinakamura, Tetsushi Furukawa, Kazuko Koshiba-Takeuchi, Chulan Kwon, Jun K. Takeuchi, Sall+ Cells Represent a Renewing cardiac Progenitor Population., 2012 Weinstein cardiovascular development conference (Chicago, USA), 2012.5.3

(18) Ryo Nakamura, Kazuko Koshiba-Takeuchi, Yuko Tsukahara, Tetsuo Sasano, Mizuyo Kojima, Tetsushi Furukawa, Hesham A Sadek, Jun K Takeuchi, The novel mechanism of histone-chromatin regulation for cardiomyocytes regeneration., 2012 Weinstein cardiovascular development conference (Chicago, USA), 2012.5.3

(19) 森田唯加、塚原由布子、杉崎弘江、Kwon Chulan、小柴和子、竹内純、新たな心臓前駆細胞制御因子と階層性の理解、第41回日本心脈管作動物質学会(秋田)、2012.2.11

(20) Kazuko Koshiba-Takeuchi, Ryo Nakamura, Sawaka Yamada, Mizuyo Kojima, Jun K. Takeuchi, Chromatin Formation is Necessary for Cardiomyocyte Regeneration in Mammal/Amphibian Models., Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology (Keystone, USA), 2012.1.23

(21) Yuika Morita, Yuko Tsukahara, Peter

Anderson, Junko Kurokwa, Hiroe Sugizaki, Ryuichi Nishinakamura, Tetsushi Furukawa, Kazuko Koshiba-Takeuchi, Chulan Kwon, Jun K. Takeuchi, Sall+ Cells Represent a Renewing cardiac Progenitor Population., Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology (Keystone, USA), 2012.1.23

(22) 森田唯加、塚原由布子、杉崎弘江、Kwon Chulan、小柴和子、竹内純、胚性・体性心臓前駆細胞をマークする新規因子の特異な分化制御機構、第2回Molecular Cardiovascular Conference II (北海道)、2011.9.3

## 【知的所有権の取得状況】

### 1. 特許取得

(1) 竹内純、森田唯加、塚原由布子、特定因子による心臓幹・前駆細胞の誘導/活性化方法、国際出願番号:PCT/2012/084259、2012.12.21

(2) 竹内純、森田唯加、塚原由布子、高効率心臓細胞分化能を持った新規心臓前駆(幹)細胞制御因子の樹立法、特願2012-011458、2012.1.23

### 2. 実用新案登録

特記事項なし

### 3. その他

#### A: 表彰

(1)公益財団法人万有生命科学振興国際交流財団 Banyu Foundation Research Grant 2010 第1回 万有医学奨励賞 優秀賞 2012.12

#### B: 運営・教育

2010-現在 国際心臓発生学会日本部会 運営委員 (2018年日本にて国際学会招致)

2011-現在 国際心臓研究学会 (ISHR) 理事

2011-2012 日本分子生物学会 男女共同参画運営委員

2013 東京都立青柳小学校サイエンス教室

2014 東京都立小日向小学校サイエンス教室

2014-現在 日本発生生物学会 ポスドク問題ワーキンググループ委員