

2023 年度特定研究奨励金 報告書

報告者所属・氏名

所属	生活科学部 食生活科学科	氏名	中村彰男
----	--------------	----	------

奨励金による研究活動・実績（具体的に記載）

目的：虚血性心疾患は日本人の死因の第 2 位を占め、働き盛りの突然死（急性心筋梗塞）の原因にもなっています。本研究では冠動脈平滑筋細胞や心筋細胞にも焦点を当て、疾患エクソソームを予防バイオマーカーや予防効果のある食品機能性成分の探索に応用することで、集団および個人における予防医療・先制医療の発展に向けたトランスレーショナルリサーチを行っています。この研究を進めるためには、安定した冠動脈平滑筋細胞や心筋細胞の培養が必須です。本研究ではこの不死化心筋細胞株の樹立と安価な細胞培地の確立を目的に研究を行いました。

方法：ヒト疾患モデル細胞の不死化細胞の作製のため、ヒト初代正常心筋細胞にヒトテロメラーゼ逆転写酵素（hTERT）遺伝子をネオマイシン耐性遺伝子と共にレンチウイルスベクターを用いて遺伝子導入しました。hTERT が発現している安定細胞株を得るために、ネオマイシンを用いたスクリーニングを行い、不死化した組換え体ヒト心筋細胞細胞を得ました。得られたヒト初代正常心筋細胞を不死化安定細胞株にするために、約 6 継代程度の培養を行いました。また、PCR で hTERT 遺伝子の確認を行いました。

結果：レンチウイルスによりヒトテロメラーゼ逆転写酵素（hTERT）遺伝子を導入したヒト心筋細胞は、ネオマイシンによるスクリーニングを行った結果、不死化細胞を得ることに成功しました。不死化細胞では PCR で hTERT 遺伝子の確認が得られました。ただし、この不死化ヒト心筋細胞株は増殖が非常に遅く、もとのヒト初代正常心筋細胞の 3 倍以上のダブリングタイムがかかり、細胞の形状も異なりました。この原因が hTERT 遺伝子あるいはネオマイシン耐性遺伝子の導入によるものかは現時点では不明です。また、ヒト初代正常心筋細胞には非常に高価な専用培地を購入しなければなりません。しかしながら、m199 培地に仔牛血清、インスリン、ヒト EGF、ヒト bFGF、を加えることで非常に安価な増殖培地を作成することに成功しました。

結論：レンチウイルスで不死化ヒト心筋細胞株の樹立に成功しましたが、細胞増殖が非常に遅く、その原因は不明です。ヒト心筋細胞の安価な増殖培地の開発に成功しました。