



令和4年1月26日

学校法人 東京女子医科大学

心筋細胞の配向制御により、心筋組織の新たな機能特性を発見

～再生医療・疾患・創薬研究用心筋組織構築や心疾患の病態解明へ展開～

東京女子医科大学の研究グループ（同大学循環器内科の高田卓磨大学院生と同大学先端生命医科学研究所の佐々木大輔特任助教および同大学先端生命医科学研究所・循環器内科の松浦勝久准教授ら）は、配向を制御したヒト心筋組織の作成に成功し、そのような心筋組織では心筋細胞が一方向性に収縮・弛緩するとともに、同期的収縮を促進することで、組織全体の収縮・弛緩機能が向上することを見出しました。

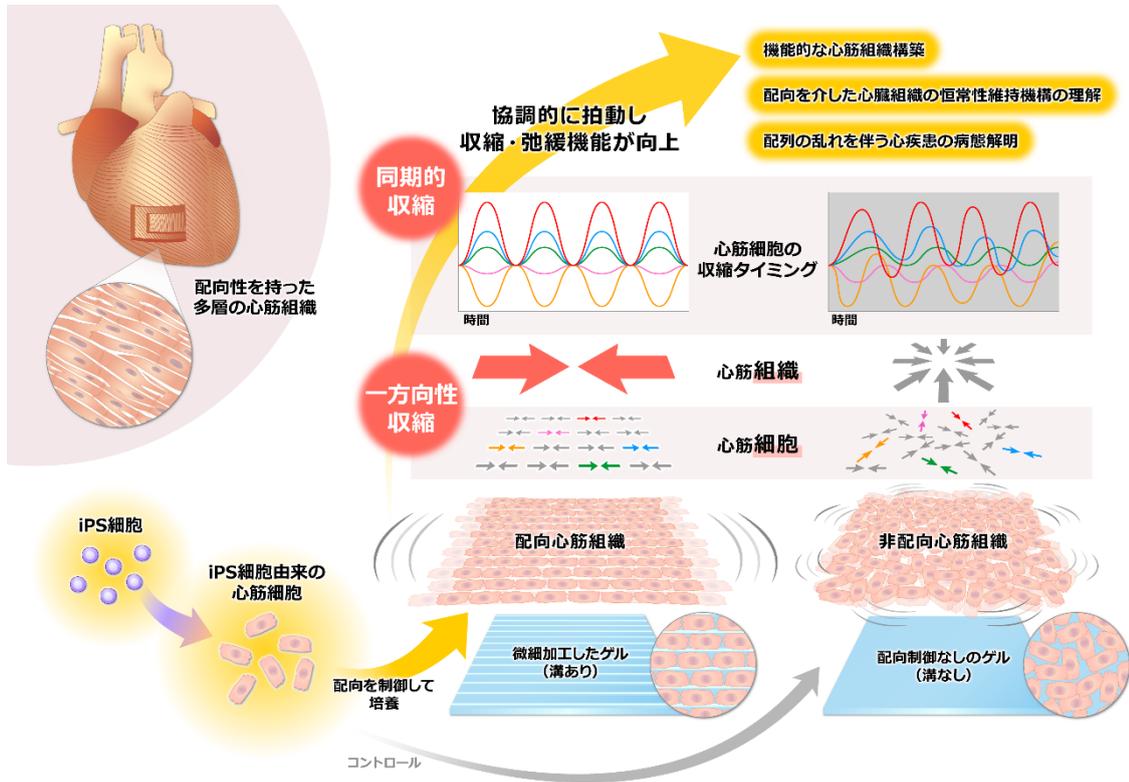
本研究成果は、再生医療や疾患・創薬研究用心筋組織開発のみならず、心筋細胞の配列の乱れを有する心疾患の病態解明など幅広い展開が期待されます。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業「ヒト iPS 分化細胞技術を応用した医薬品の心毒性評価法の開発と国際標準化に関する研究」「ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた抗がん剤の心毒性評価法の開発と国際標準化」(研究開発代表者：国立医薬品食品衛生研究所 諫田泰成)の一環で行われました。また日立財団、宮田心臓病研究振興基金、先進医薬研究振興財団、公益信託循環器学研究振興基金の支援も受けており、その研究成果は、国際科学誌 Biomaterials に、2021 年 12 月 30 日にオンライン版で発表されました。

Point

- ・^{※1} 配向を制御したヒト心筋組織の作成に成功し、そのような心筋組織では心筋細胞が一方向性に収縮・弛緩するとともに、同期的収縮を促進することで、組織全体の収縮・弛緩機能が向上することを見出しました。
- ・より生体に近い心筋組織の構築は、再生医療用組織だけでなく、疾患・創薬研究への応用および生体の心臓を理解する上での大変重要な課題です。
- ・生体の心臓では、心筋細胞の向きの揃った組織構造をしていますが、心筋組織全体の収縮・弛緩機能への影響およびその機序については明らかではありませんでした。
- ・ストライプ上に微細加工した^{※2} フィブリングル上でヒト^{※3} iPS 細胞由来心筋細胞を培養することで、生体心臓に近い配向度を有する心筋組織の形成が可能となり、また組織全体の収縮・弛緩機能の向上が認められました。
- ・心筋細胞の配向を制御することで、一方向性の収縮・弛緩が可能となるだけでなく、組織内の心筋細胞の収縮のタイミングも揃うことが明らかとなり、個々の心筋細胞が協調的に収縮することで、より大きな力を生み出すことを見出しました。
- ・本研究成果は、様々な医療用心筋組織構築に応用されるだけでなく、心疾患における心筋細胞の配列の乱れの病態研究につながることを期待されます。

研究成果の概念図



I 研究の背景と経緯

組織工学を用いたヒト多能性幹細胞由来心筋組織は、再生医療や疾患・創薬研究への応用が世界中で進められています。我々はヒト iPS 細胞由来心筋細胞の量産化技術と細胞シート工学を含む組織工学を基盤にヒト心筋組織開発および機能評価系の開発を行っており、より生体に近い組織の構築が、上記医療応用だけでなく、生体の組織の特性を理解する上でも重要と考えています。心臓においては、収縮・弛緩機能を担う心筋細胞の向きが揃ったレイヤー状の組織が少しずつ向きを変え層状に重なることで、効率的な拍出を生み出すと考えられていますが、心筋組織全体の収縮・弛緩機能への影響およびその機序については明らかではありませんでした。

そこで今回我々は、微細加工したフィブリングルの上にヒト iPS 細胞由来心筋細胞を播種することで配向した心筋組織を作成するとともに、心筋組織の張力を測定し、配向と機能との関係性、およびその機序について検討しました。

II 研究成果の概要

心筋細胞を単に培養皿上で培養するだけでは配向しません。またプラスチック製の培養皿上に接着し培養された状態では、心筋組織としての収縮・弛緩機能を評価することは困難です。我々はこれまでにフィブリングル上で心筋細胞を培養し、独自の張力測定システムを用いることで、心筋組織の収縮・弛緩機能評価を実現してきました。そこで本研究では、心筋細胞の配向制御を可能にするフィブリングルを作成することで、心筋細胞の配向と収縮・弛緩機能の関係性を評価することとしました。

微細加工したシリコンウェハを用いて熱インプリントしたシクロオリフェンポリマーを鋳型としてストライプ上にV字型の溝を有するポリジメチルシロキサンを作成し、その上にフィブリンを塗布することで微細加工フィブリングルを作成しました (図 1)。

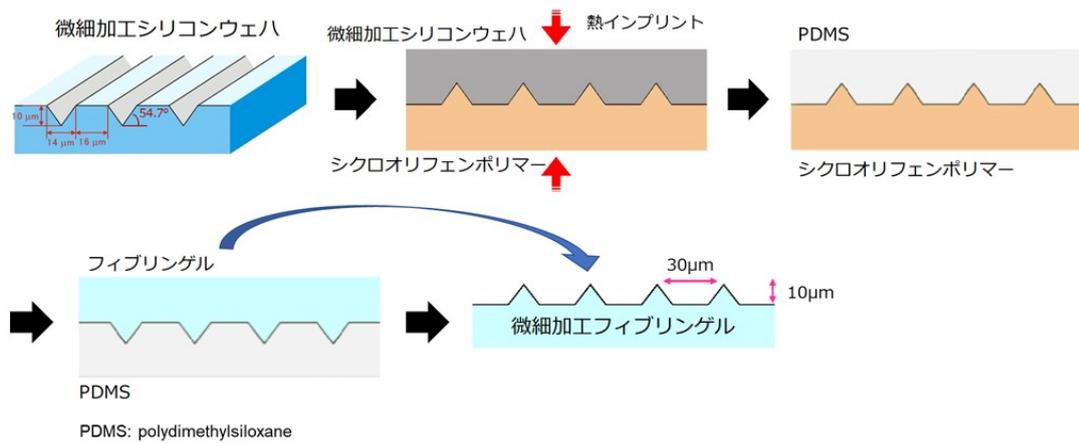


図1：微細加工フィブリンゲル作成方法

微細加工したシリコンウェハを用いて熱インプリントしたシクロオリフェンポリマーを鋳型としてストライプ上にV字型の溝を有するPDMSを作成し、その上にフィブリンを塗布することで微細加工フィブリンゲルが作成される。

微細加工したフィブリンゲル上にヒト iPS 細胞由来心筋細胞を播種したところ、加工処理なしのフィブリンゲル上へ播種した心筋細胞に比して有意に配向度が向上しました（図2）。

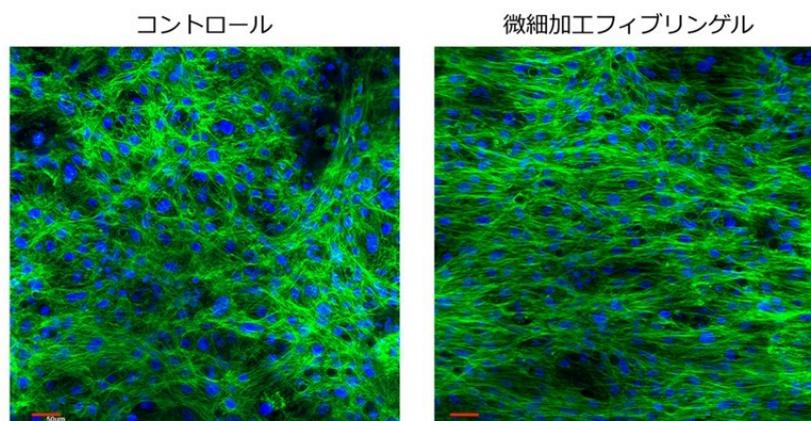


図2：心筋組織の配向度評価（緑：アクチン、青：核）

微細加工フィブリンゲルと非加工フィブリンゲル(コントロール)にヒトiPS細胞由来心筋細胞を播種後7日目の染色画像。微細加工フィブリンゲル上の心筋細胞は、コントロールに比して一方向性に配列していることが観察される。

フーリエ解析を用いて算出した配向度の指標である orientation index は 1.5 であり、成体ラット心臓の配向度が 1.6 であることから、生体に近い配向度を有する心筋組織の作成が可能と考えられます。さらに配向心筋組織の収縮・弛緩機能を評価したところ、非配向心筋組織に比して有意に張力、最大収縮速度および最大弛緩速度の向上が認められました（図3）。

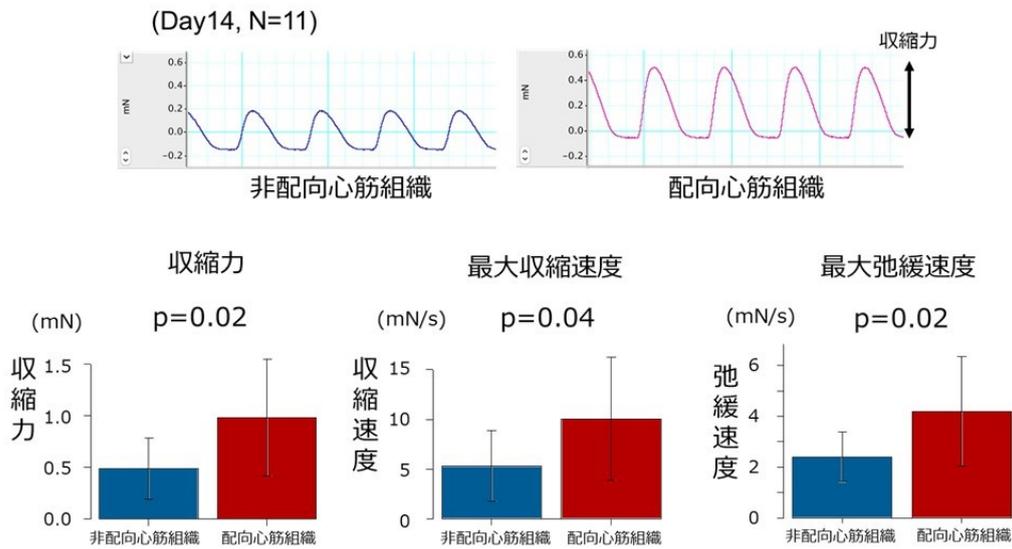


図3：心筋組織の機能評価
 (上段)配向心筋組織と非配向心筋組織の張力の代表的画像
 (下段)配向心筋組織では、非配向心筋組織に比して収縮力、最大収縮速度および最大弛緩速度が有意に向上する。

次に、配向心筋組織の収縮・弛緩機能向上の機序について検討しました。収縮タンパクや細胞内カルシウム制御およびイオンチャネルに関わる遺伝子発現に関しては、配向および非配向心筋組織間で大きな違いは認められず、個々の心筋細胞の成熟化の関与は少ないと考えられました。一方で、心筋組織内の心筋細胞の収縮の向きおよびタイミングを画像解析にて評価したところ、配向心筋組織内の心筋細胞は、非配向心筋組織に比して一方向性の収縮を示すとともに、同期して収縮することが明らかとなりました(図4)。すなわち、心筋組織の機能向上には、個々の心筋細胞が協調的に機能するための適切な環境が必要であることが示唆されます。

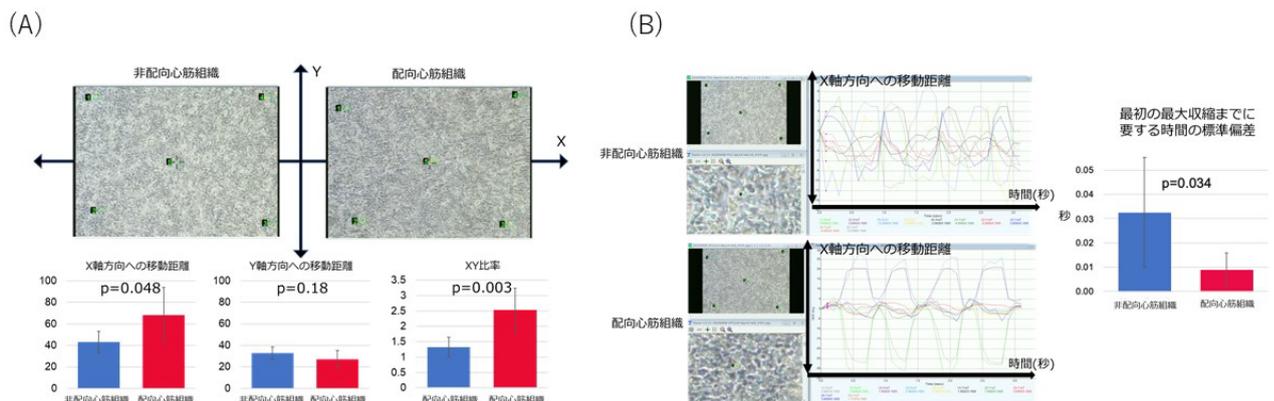


図4：配向心筋組織の機能向上の機序
 (A)心筋組織の端の4点における収縮の方向性を、移動距離を用いて評価すると、配向心筋組織の心筋細胞はX軸方向に有意に移動している。
 (B)心筋組織の端の4点および中心における収縮のタイミングを評価すると、配向心筋組織では心筋細胞の収縮タイミングのずれが有意に少ない。

Ⅲ 研究成果の意義と今後の展開

本研究は、再生医療や疾患・創薬研究開発などで求められる、より機能性の高い3次元心筋組織構築に向けた基盤的知見となるものと考えます。また配向制御が心筋細胞の収縮同期性を向上させることは、翻って非配向心筋組織における心筋細胞の収縮非同期性を示すものです。心筋細胞の配列の乱れは様々な心疾患において認められる事象です。本研究の発展により、心疾患の病態における心筋細胞の配列の乱れと収縮・弛緩機能異常および催不整脈作用との関係性が明らかとなることも期待されます。

【用語解説】

- ※1 配向・・・細胞の長軸方向が揃った状態。
- ※2 フィブリンゲル・・・フィブリンが網状になり、この中に水分子が固定されている半固体状態。
- ※3 iPS細胞・・・人工多能性幹細胞（iPS細胞）は皮膚などの体細胞に遺伝子を導入することによって得られる多能性幹細胞である。

【お問い合わせ先】

<研究に関すること>

松浦勝久

東京女子医科大学 先端生命医科学研究所

〒162-8666 東京都新宿区河田町8-1

Tel : 03-3353-8112 内線 43213

Fax : 03-3356-6041

E-mail : matsuura.katsuhisa"AT"twmu.ac.jp

<報道担当>

東京女子医科大学 広報室

〒162-8666 東京都新宿区河田町8-1

Tel : 03-3353-8111 Fax : 03-3353-6793

E-mail: kouhou.bm"AT"twmu.ac.jp

※E-mail は上記アドレス"AT"の部分を変えてください。

【プレス情報】

1. 掲載誌名

Biomaterials

2. 論文タイトル

Aligned human induced pluripotent stem cell-derived cardiac tissue improves contractile properties through promoting unidirectional and synchronous cardiomyocyte contraction

3. 著者名

Takuma Takada¹, Daisuke Sasaki², Katsuhisa Matsuura^{1,2}, Koichiro Miura^{1,2}, Satoru

Sakamoto^{1,2}, Hiroshi Goto³, Takashi Ohya⁴, Tatsuro Iida^{1,2}, Jun Homma², Tatsuya Shimizu²,
Nobuhisa Hagiwara¹

著者の所属 1. 東京女子医科大学 循環器内科、2. 東京女子医科大学 先端生命医科学研究所
3. 東京大学 心臓血管外科、4. 早稲田大学 創造理工学部

4. DOI : 10.1016/j.biomaterials.2021.121351

5. 論文のオンライン掲載日(Embargo) 2021 年 12 月 30 日