

課題番号 30

## 動的収縮する心室組織 ECM ハイドロゲルによるヒト iPS 細胞の心室筋細胞への分化促進

### [1] 組織

代表者：馮 忠剛

(山形大学大学院理工学研究科)

対応者：白石 泰之

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：藤田 恭平

(山形大学大学院理工学研究科)

糸山 廣章

(山形大学大学院理工学研究科)

樋口 俊介

(山形大学大学院理工学研究科)

研究費：物件費 30 万円

### [2] 研究経過

加齢に伴う心臓疾患の治療に患者由来の人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) から分化させた心筋細胞の応用が期待されている。現在、ヒト iPS 細胞の心筋細胞への分化効率は向上されつつある一方、心臓を構成するサブタイプの心筋細胞への分化促進法がまだ確立されていない。

本共同研究では、心室筋組織より抽出した ECM から作製したハイドロゲルを動的に収縮させ、その上に培養したヒト iPS 細胞を心室筋細胞への分化を促進することを目的とした。

以下、研究活動状況の概要を記す。

本共同研究は研究計画に従って以下の実験を行った。

#### 1. 心室筋組織の脱細胞と心室筋 ECM ゲルの作製

ヤギ由来心室筋組織を細切、脱細胞して、消化液で組織を溶解し、心室筋組織の ECM 溶液を調整した。その後、ECM 溶液を 37°C でゲル化させた (図 1)。

#### 2. 心室筋 ECM ハイドロゲルを動的に収縮させるため、PDMS アクチュエータ素材の作成

硬化剤の割合を一定 (配合比率 20:1) にした PDMS を異なる温度 (37°C と 80°C) で硬化させたものを使用し、弾性の異なる PDMS 薄膜を作成した。この薄膜と心室筋ハイドロゲルの組み合わせにより動的変形できる培養基質の構成を可能にした。



図 1. ヤギ心室筋 ECM から作成したハイドロゲル (直径 12.5 mm)

#### 3. 心室筋 ECM ハイドロゲル上でのヒト iPS 細胞の分化誘導

ヒト iPS 細胞を心室筋 ECM ハイドロゲル上で培養・分化させ、心室筋細胞への分化を検証した (図 2)。

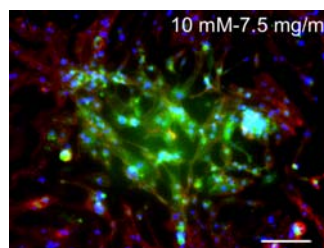


図 2. 心室筋 ECM ハイドロゲル上に分化した心筋細胞 (緑—MLC2v; 赤—cTNT; 青—DAPI. Scale: 100  $\mu$ m)

実験研究の際に、研究代表者、対応者、分担者全員で一回の研究打ち合わせを行った (2017 年 5 月 4 日 Kota Kinabalu 第 56 回日本生体医工学会大会の場を利用)。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第 1 に、独自の心室筋組織 ECM ゲルの作成方法を確立した。この方法は従来の工程より乾燥・粉碎の過程を省いて短期間・低コストで心室筋 ECM 溶液を作ることができた。更に、ゲルの力学特性の調整には、架橋剤の EDAC の利用は初めて報告したことである。

第 2 に、弾性変形しやすい PDMS 膜を利用して動的変形できる培養基質の構成を可能にした。

第3に、心室筋組織ECMゲル上のヒトiPS細胞の心筋細胞への分化を実現した。分化細胞の心室筋細胞の促進傾向およびゲルの力学特性がサブタイプ心筋細胞分化に及ぼす影響が示唆された。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、ヒトiPS細胞のサブタイプ心筋細胞への分化誘導に新たな手法を開発する基礎検討であって、有意義な結果と更なる発展性を示した。共同研究にあたって、若手研究者の育成にも効果的である。研究結果は研究分担者（藤田恭平）の博士論文研究成果の一部として認められた。本研究に関する国際的共同研究も検討している。

#### [4] 成果資料

##### 学会発表

1. 藤田恭平、馮忠剛、小沢田正、佐藤大介、中村孝夫、白石泰之、梅津光生. 心室組織ECM由来ハイドロゲルの力学特性の向上と細胞適合性の評価. 第56回日本生体医工学会大会、仙台、2017年5月3-5日

##### 学術誌論文

1. K Fujita, Z Feng, D Sato, T Kosawada, T Nakamura, Y Shiraishi, M Umezu. Modulation of the mechanical properties of ventricular extracellular matrix hydrogels with a carbodiimide crosslinker and investigation of their cellular compatibility. AIMS Materials Science, 2018; 5(1): 54-74.