

時空間的に物性調節できる複合基質による 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：濱田 文花

(山形大学大学院理工学研究科)

泉 亜希彦

(山形大学大学院理工学研究科)

研究費：物件費 20 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。

サブタイプの心筋細胞へのよりデリケートな分化制御には分化過程に適した培養基質物性の時空間的な変化・調節が必要不可欠である。本研究では、細胞培養中に培養基質の力学特性および電場環境を設計した空間的な分布で作り出しかつ時間的に変化・調節できる複合培養基質を開発する。

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。

2. 培養基質生化学物理特性の時空間的な変化・調節のため、ポリアクリルアミドゲルにおいて EDAC 架橋剤により心室筋組織の ECM をコーティングし；更にゲル内に柔軟性ナノグラフェンペーパー電極を埋込み独創的な複合細胞培養基質を作成した。その基質の細胞培養適合性を線維芽細胞の培養により確認した (図 1)。

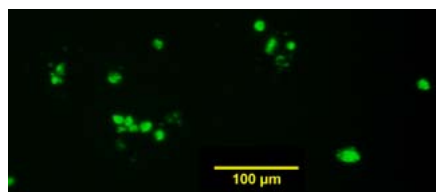


図 1. 複合基質上の線維芽細胞培養

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)。

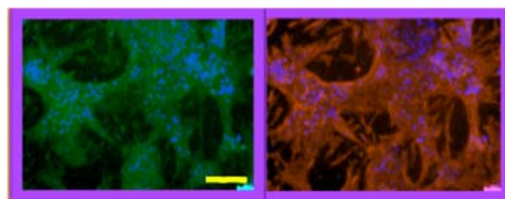


図 2. 心室筋 ECM ハイドロゲル上に分化した心筋細胞 (緑—MLC2v; 赤—cTNT; 青—DAPI. Scale: 100 μm)

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 (2019 年 11 月 14 日大阪第 8 回国際人工臓器学術大会の場を利用)。

[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 複合培養基質の作成方法を確立した。この方法は培養基質生化学物理特性の時空間的な変化・調節を可能にした。

第 2 に、柔軟性ナノグラフェンペーパー電極を埋め込む独創的な手法を利用して動的変形できる培養基質の構成をできた。

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。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. Hamada F, Fujita K, Feng Z, Kosawada T, Sato D, Nakamura T, Shiraishi Y, Umezu M: Investigation on the cardiomyocyte subtypes derived from human iPS cells on ventricular ECM hydrogels. IFAO, Osaka, 2019.11