

(第39回未来医学研究会大会より<特集I>)フロントラ
ンナー報告未来医療実現を目指した補助ポンプ型心
筋組織の開発

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-11-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 関根, 秀一 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.20780/00031715

フロントランナー報告

未来医療実現を目指した
補助ポンプ型
心筋組織の開発

東京女子医科大学 先端生命医科学研究所

関根 秀一

Hidekazu Sekine



はじめに

先天性心疾患や虚血性心疾患、特発性心筋症などが起因となり心臓のポンプ機能が高度に低下してしまう難治性の重症心不全に対して、現在、心臓移植が最も有効な治療法であるがドナー不足が大きな問題となっており、また左室補助装置の使用は、感染や血栓形成などの問題があり長期的生命維持は困難なのが現状である。そこで新たな治療法として再生医療が注目され、これまでに筋芽細胞や骨髄由来細胞、または心臓幹細胞を不全心筋組織内へ注入することにより心筋組織を再生させる細胞移植療法がすでに臨床応用されている。しかし、細胞懸濁液注入による治療はバラバラになった細胞が移植されるため、移植位置を制御することの難しさや移植部からの流出や壊死による細胞の損失が大きな問題となっている。これらの問題を解決するために予め生体外で細胞を組織化するというティッシュエンジニアリングによる研究開発が世界中で盛んに行われている。本稿ではティッシュエンジニアリング手法の一つである細

胞シート工学によって構築した心血管組織と近未来の治療法を目指した補助ポンプ型心筋組織の研究開発について紹介する。

細胞移植による心筋の再生治療

心筋に対する細胞移植の研究が始まったのは1990年代前半で、心臓に移植されたマウス胎児心筋細胞がホスト心筋に生着することが示された¹。その後、心筋細胞のみならず細胞注入療法は心機能の回復を助けることが報告された²。また心筋再生における細胞ソースの一つとして骨格筋の筋芽細胞が代替として用いられ、2003年には患者本人の骨格筋より採取した筋芽細胞の移植を冠動脈バイパス術と併用して行うことで心機能が回復することが報告された³。しかし不整脈を引き起こし死亡する例もあったため、抗不整脈薬や植込み型除細動器の併用が必須であった。近年、高い心筋分化能力ならびに増殖能を持つ細胞ソースとして盛んに研究されているのはES細胞とiPS細胞で、ともにヒト細胞からの心筋細胞への分化誘

導法も確立され、心不全動物モデルへの移植実験においても分化誘導させた心筋細胞はホストの心臓に生着し心機能が改善されることも示されている^{4,5}。

ティッシュ エンジニアリングによる 心筋組織の構築

生体内や培養系で体の機能組織を構築させるティッシュエンジニアリングは、1980年代後半に提唱され医学と工学の融合により生まれた学際的な学問である。そして組織の再生には細胞と細胞の足場となる細胞外マトリックスや細胞の分化・増殖のための増殖因子が必要であるとし、その足場材料としては生分解性のポリ乳酸やその共重合体からなる三次元スキャフォールドが用いられた。この方法はスキャフォールドに細胞を播種し培養に生体内へ移植するが、移植後には高分子が緩やかに分解・吸収され、細胞が産生する細胞外マトリックスと置換されるため、結果的に生体様の組織構造が再生できるというものである⁶。ティッシュエンジニアリングを用いることの利点は、細胞注入療法で課題となっている細胞の流出や壊死による細胞の損失を克服できること、また先天性心疾患など欠損部位に対する治療を可能とすることである⁷。現在、スキャフォールドとしてゼラチン、アルギン酸またはポリグリコール酸の多孔性スポンジ、あるいは脱細胞化組織などを用いた研究が行われている^{8,9,10,11}。またコラーゲン溶液と心筋細胞を混ぜモールド内で培養することにより任意形状の心筋組織を構築する開発も報告されており、この研究ではin vitroでの伸展負荷により心筋組織に配向性を持たせ、さらに心筋細胞を肥大させることも示されている¹²。

細胞シート工学による 心筋組織の構築

組織構築を行う際に細胞の足場として三次元スキャフォールドを用いる方法は、実際にはスキャフォールド内部へ十分に細胞数を播種することが難しく、結果として細胞成分が少なく大量の結合組織が多い組織ができあがってしまう。つまり心臓弁や軟骨など細胞が疎な組織の作製には適するが、心臓や腎臓、肝臓など細胞が密で複雑な構造と高い機能を持つ組織を作製するには次の新たな技術開発が必要となっていた。このような中、我々はスキャフォールドフリーで組織を構築する細胞シート工学を用いて心筋組織構築の研究開発を進めてきた。細胞シート工学とは培養皿表面に温度応答性の高分子(*N*-イソプロピルアクリルアミド)を修飾することで32℃を境に温度変化のみで細胞の接着・脱着を制御できるという技術である。従来、培養細胞を回収するにはプロテアーゼを使用するが、この方法では細胞と培養皿表面を接着させている接着蛋白を分解するばかりか細胞膜表面の蛋白までも分解してしまう。しかし温度応答性培養皿を使用した場合は、温度を降下させるだけで細胞間接着や細胞外マトリックスを破壊することなく細胞をシート状に回収が可能で、積層化することにより三次元組織を構築できる。積層化により構築された組織は培養された細胞自身が産生する細胞外マトリックスのみからなるためスキャフォールドを使用する時に生じる問題を回避できる¹³。

まず初めに、新生仔ラット心筋細胞シートを作製し積層化を行うことでin vitroにおいて心筋細胞シート間に数十分で電気的な結合が形成され、同期して自律拍動する組織が作製できることを示した^{14,15}。次に積層化心筋細胞シートをラット皮下組織に移植すると、ホスト心臓の心電図とは異

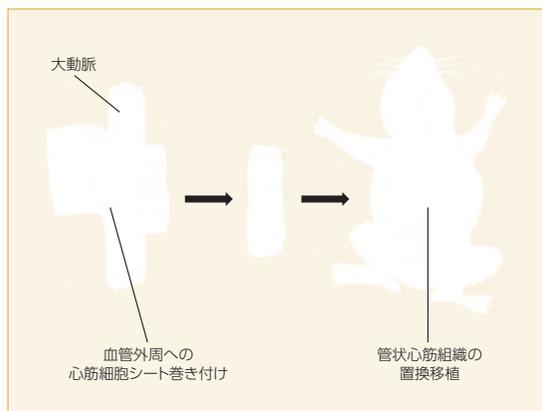


図2 補助ポンプ型管状心筋組織の作製と移植。生体外にて大動脈周囲へ心筋細胞シートを連続的に巻き付け、培養することで管状心筋組織を構築する。その後、置換可能な動脈へ移植を行う。

となりうる管状心筋組織の構築に着手している。これまでに、管状フィブリンゲル足場の外周に心筋細胞シートを巻きつけることにより管腔内圧を生じる管状心筋組織の作製に成功させた²³。また心筋細胞シートを大動脈外周に巻きつけることで移植可能な管状心筋組織を構築し大動脈との置換移植を行った(図2)。その結果、置換移植後においてホストとは異なる管状心筋組織単独の自律拍動が確認でき、内圧測定では最大で8.1mmHgの内圧較差が計測された。組織切片では動脈の外周に巻き付けた心筋組織の生着が認められ、規則正しい筋節構造、多くのミトコンドリアおよびデスモソームが確認された。またin vivoにおける動脈の拍動条件下で心筋組織が収縮進展を繰り返されることにより成長肥大が促されることも示した²⁴。内圧測定により圧格差が生じたことはホストの血行動態を変化させ得る可能性を示しており、細胞シート工学を用いることで補助ポンプ型心筋組織が作製できる可能性を示唆する結果となった。

現在は、iPS細胞由来ヒト心筋細胞を用い、前述したin vitro組織スケールアップ技術を管状心筋組織の構築に応用し、より厚く収縮力が増大し

た補助ポンプ型ヒト管状心筋組織の開発研究を進めている。

おわりに

血液循環を制御可能とする補助ポンプ型心筋組織の臨床応用には、ヒトへ移植可能な心筋細胞や血管構成細胞の獲得や構築組織のスケールアップなどの大きな課題を克服する必要があるが、他分野の研究者と共に学際的な技術開発を強力に推し進めることで、そう遠くはない未来に達成できるものと考えている。

略 歴

平成11年3月	国際医療福祉大学 保健学部 卒業
平成15年3月	国際医療福祉大学大学院 医療福祉学研究所 博士前期課程 修了
平成20年8月	自治医科大学 博士(医学)
平成20年11月	東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 助教
平成25年4月	東京女子医科大学 先端生命医科学研究所 講師

参考文献

- 1) Soonpaa MH, Koh GY, Klug MG, et al. Formation of nascent intercalated disks between grafted fetal cardiomyocytes and host myocardium. *Science* 1994; 264:98.
- 2) Laflamme MA, Murry CE: Regenerating the heart. *Nat Biotechnol* 2005; 23:845
- 3) Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, et al: Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001; 357:279.
- 4) Caspi O, Huber I, Kehat I, et al: Transplantation of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes improves myocardial performance in infarcted rat hearts. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 50:1884.
- 5) Nelson TJ, Martinez-Fernandez A, Yamada S, et al: Repair of acute myocardial infarction by human stemness factors induced pluripotent stem cells. *Circulation*. 2009; 120: 408.
- 6) Langer R, Vacanti JP: *Tissue Engineering*. Science 1993; 260:920.
- 7) Zandonella C: *Tissue engineering: The beat goes on*. *Nature* 2003; 421:884.
- 8) Li RK, Jia ZQ, Weisel RD, et al: Survival and function of bioengineered cardiac grafts. *Circulation* 1999; 100: II63.
- 9) Leor J, Aboulaia-Etzion S, Dar A, et al: Bioengineered cardiac grafts: A new approach to repair the infarcted myocardium? *Circulation*. 2000; 102: III56-61.
- 10) Bursac N, Papadaki M, Cohen RJ, et al: Cardiac muscle tissue engineering: toward an in vitro model for electrophysiological studies. *Am J Physiol* 1999; 277: H433.
- 11) Ott HC, Matthiesen TS, Goh SK, et al: Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart. *Nat Med*. 2008; 14: 213.
- 12) Zimmermann WH, Melnychenko I, Wasmeier G, et al: Engineered heart tissue grafts improve systolic and diastolic function in infarcted rat hearts. *Nat Med* 2006; 12: 452.
- 13) Yang J, Yamato M, Kohno C, et al: Cell sheet engineering: recreating tissues without biodegradable scaffolds. *Biomaterials* 2005; 26: 6415.
- 14) Shimizu T, Yamato M, Akutsu T, et al: Electrically communicating three-dimensional cardiac tissue mimic fabricated by layered cultured cardiomyocyte sheets. *J Biomed Mater Res* 2002; 60: 110.
- 15) Haraguchi Y, Shimizu T, Yamato M, et al: Electrical coupling of cardiomyocyte sheets occurs rapidly via functional gap junction formation. *Biomaterials*. 2006; 27: 4765.
- 16) Shimizu T, Yamato M, Isoi Y, et al: Fabrication of pulsatile cardiac tissue grafts using a novel 3-dimensional cell sheet manipulation technique and temperature-responsive cell culture surfaces. *Circ Res* 2002; 90: e40.
- 17) Shimizu T, Sekine H, Isoi Y, et al: Long-term survival and growth of pulsatile myocardial tissue grafts engineered by the layering of cardiomyocyte sheets. *Tissue Engineering* 2006; 12: 499.
- 18) Sekine H, Shimizu T, Kosaka S, et al: Cardiomyocyte bridging between hearts and bio-engineered myocardial tissues with mesenchymal transition of mesothelial cells. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25: 324.
- 19) Sekine H, Shimizu T, Dobashi I, et al: Cardiac cell sheet transplantation improves damaged heart function via superior cell survival in comparison with dissociated cell injection. *Tissue Eng Part A*. 2011; 17: 2973.
- 20) Sekine H, Shimizu T, Hobo K, et al: Endothelial cell coculture within tissue-engineered cardiomyocyte sheets enhances neovascularization and improves cardiac function of ischemic hearts. *Circulation* 2008; 30: S145.
- 21) Shimizu T, Sekine H, Yang J, et al: Polysurgery of cell sheet grafts overcomes diffusion limits to produce thick, vascularized myocardial tissues. *FASEB J* 2006; 20: 708.
- 22) Sekine H, Shimizu T, Sakaguchi K, et al: In vitro fabrication of functional three-dimensional tissues with perfusable blood vessels. *Nat Commun* 2013; 4: 1399.
- 23) Kubo H, Shimizu T, Yamato M, et al: Creation of myocardial tubes using cardiomyocyte sheets and an in vitro cell sheet-wrapping device. *Biomaterials*. 2007; 28: 3508.
- 24) Sekine H, Shimizu T, Yang J, et al: Pulsatile myocardial tubes fabricated with cell sheet engineering. *Circulation* 2006; 114: 187.