

(医学生研究発表)効果的な収縮能獲得のためのヒト心筋細胞への配向性付与の検討

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2018-05-16 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 三守, 恵里加 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.20780/00031856

タイトル：効果的な収縮能獲得のためのヒト心筋細胞への配向性付与の検討

配 属 先：先端生命医科学研究所

指導教員：関根秀一

氏 名：三守恵里加

【背景】

左心室の心筋線維組織は内層と外層では心臓の長軸に対して垂直方向に走行し、中間層では円周方向に走る構造となっていることで収縮時に心室から血液を搾り出すことができる。しかし、一般的な細胞培養においては細胞の配向性は制御できずランダムな接着と伸展形態を示す。心筋細胞シートの収縮力を増加させるための1つの方法として、心筋細胞への配向性付与が考えられる。心筋細胞の収縮方向がランダムな場合、細胞シート内にひずみが生じるため収縮力にロスが生じる。一方、心筋細胞の収縮方向が揃えば細胞シート全体としての収縮力が一方向性に増強する。現在パターン化した温度応答性培養皿(UpCell)上で心筋細胞を培養することで細胞の配向性を付与する研究が行われている。

【目的】

心筋細胞に配向性を付与し心筋細胞シートの収縮効率を上げる方法を開発することを目的とし、in vitro において基礎的な検討を行った。

【方法】

アクリルアミドと光重合材を含む溶液をカバーガラスと UpCell の隙間に注入し、細胞接着幅/細胞非接着幅 (μm) が 50/500、100/500、200/500、1000/500 の4種のマスクを UpCell の上に置き可視光を12分間照射した。この表面に微細な凹凸加工を施し、パターン化した UpCell と未パターン化 (コントロール) UpCell にヒト iPS 細胞由来心筋細胞を 700 cells/mm^2 で播種し、免疫染色により評価した。

【結果】

細胞接着幅が $50 \mu\text{m}$ では細胞は殆ど接着しなかった。 $200 \mu\text{m}$ では配向している部分もあったが、ごく一部に限られた。 $1000 \mu\text{m}$ では、コントロールと同様、接着はするが配向しなかった。一方、 $100 \mu\text{m}$ では配向が確認された。全てのサンプルで、心筋細胞の拍動が確認されたが、配向が起きていない $1000 \mu\text{m}$ 幅やコントロールでは、細胞の拍動の方向がバラバラである様子が見られた。しかし配向が確認された $100 \mu\text{m}$ では、拍動の方向も揃っている様子が確認された。

【結論】

本研究では、パターン化した UpCell に心筋細胞を播種して挙動を確認した。心筋細胞の配向には適切な細胞接着幅がひとつの重要な要素であると考えられた。細胞接着幅を 100 μm にパターン化した UpCell を使用して心筋細胞を配向させれば、収縮力を増加させた心筋組織の作製も実現可能ではないかと思われる。

【考察】

細胞接着の至適幅は 100 μm と考えられた。シングルセルの状態では心筋細胞の接着の可能性は低くなるため、接着幅が狭すぎても心筋細胞は接着せず、広すぎると配向のための物理的刺激が与えられない状態で、自由に接着してしまったと考えられる。今後の課題としては、至適細胞濃度の検討、マスク細胞非接着部分の幅の変更がある。マスクの細胞非接着部分の幅は、今回の実験では 500 μm に条件を固定したが、この幅をどこまで縮められるかの検討を要する。細胞非接着部分の幅が狭すぎると、細胞が乗り上げてしまう可能性があるが、将来的に心筋細胞のみの配向した組織を製作できるようになるためには、この細胞非接着部分の幅を狭くすることが求められるからである。