

デジタルオーラル II (P42)

心血管発生・基礎研究

指定討論者: 柴田 映道 (慶應義塾大学医学部小児科)

指定討論者: 土橋 隆俊 (川崎市立川崎病院)

[P42-4] 不死化 B細胞由来 iPS心筋細胞作製における心筋細胞塊形成による
分化誘導法の改善○古谷 喜幸¹, 羽山 恵美子¹, 川口 奈奈子¹, 島田 光世¹, 松岡 瑠美子², 中西 敏雄¹, 稲井 慶¹ (1. 東京女子医科大学 循環器小児・成人先天性心疾患科, 2. 若松河田クリニック)

キーワード: iPS, 心筋細胞, 発現遺伝子

【背景】 遺伝性心疾患患者の iPS細胞から分化誘導して得られる心筋細胞(iPSC-CM)は、患者心筋に代わり遺伝子変異による細胞機能変化の評価に用いることができる。iPSC-CMは、検体間の違いが大きく、心房・心室筋細胞が混在して作成され、胎児心筋に近い特徴を持つ。【目的】 iPSC-CMの分化誘導法を改善すること。【方法】 不死化 B細胞株に、山中因子を導入して iPS細胞株とした。RPMI培地を用いた接着培養法により iPSC-CMを分化誘導した。乳酸を含む培地による選別後、iPSC-CMを浮遊系で培養して心筋細胞塊(iPSC-CM sphere)形成し培養した。多点平面微小電極システム(MED64, Alpha MED Scientific)に iPSC-CM sphereを接着し外部電流を測定し、機能評価を行った。iPSC-CMを定量 PCR法により発現遺伝子を検討した。【結果】 心筋細胞分化開始1-2ヶ月の iPSC-CM sphereでは、接着培養の iPSC-CMと比較して、NKX2.5や TBX5(心初期分化マーカー)の発現が増加した。トロポニン T(心筋細胞マーカー)やミオシン軽鎖2a(心房マーカー)やミオシン軽鎖2v(心室細胞マーカー)の発現が増加した。HCN4(洞結節ペースメーカーマーカー)、HERG(心電位依存性チャネルの一つであり LQT2原因遺伝子)、SCN5A(心ナトリウムチャネル)、SLC8A(Na/Ca Exchanger)の発現が増え、多くは成人心筋並みの発現レベルとなった。MED64による機能評価では、iPSC-CM sphereの電流量が増え波形も改善した。【結論】 心筋細胞塊形成により心筋マーカーやチャネルの発現が向上し、機能評価も改善した。iPSC-CMを心疾患の機能評価や薬剤評価に用いる場合、その品質は重要であることから、iPSC-CMの調製法の改良は継続する必要がある。