

## 代謝制御と酸素透過性培養器によるヒトiPS由来心筋細胞の成熟化

横浜国立大学大学院理工学府化学・生命系理工学専攻

関和 健, 福田 淳二

Takeshi SEKIWA, Junji FUKUDA

### 1. 目的

医薬品開発における心毒性評価では、動物実験の倫理的問題や精度の観点から、ヒトiPS (induced pluripotent stem) 心筋細胞を用いた *in vitro* 評価法が期待されている。しかし、iPS心筋細胞は胎児様の未成熟な特徴を示し、成熟した成体の心筋細胞と異なる性質を示すことがわかっている。そこで本研究では、心毒性評価の観点から、より成熟したiPS心筋組織の作製に取り組んだ。

### 2. 方法

従来から用いられているスフェロイド培養法と、主要エネルギー源をグルコースから脂肪酸に置換した培地を用いて、心筋マーカー遺伝子の発現から成熟度を評価した。ただし、スフェロイド内部で容易に低酸素状態に陥ることや、脂肪酸の酸化に多くの酸素が必要であることから、酸素透過性PDMS (polydimethylsiloxane) 培養器を開発した(図1)。さらに、得られた知見をもとに、配向性をもつ3次元組織の構築に取り組んだ。

### 3. 結果

酸素透過性PDMS培養器 [O<sub>2</sub>(+)] と酸素非透過性のポリカーボネート培養器 [O<sub>2</sub>(-)] でスフェロイドを作製し、従来のグルコース培地、またはグルコースを含まない脂肪酸培地で7日間培養を行った。グルコース培地の培養上清よりも、O<sub>2</sub>(+) で培養することでグルコース消費量、乳酸生成量がともに減少しており、エネルギー利用効率の改善と好氣的な培養環境であることが示唆された。

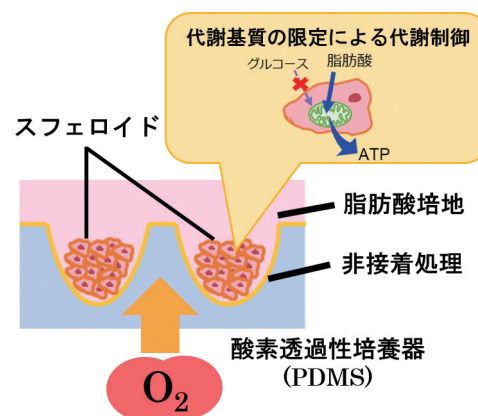


図1 本研究の培養法

成熟マーカー遺伝子 MYL2, KCNJ2 の発現が脂肪酸培地かつ O<sub>2</sub>(+) の条件で最も向上し、コントロールのグルコース培地 [O<sub>2</sub>(-)] と比較してそれぞれ約3倍、約2.5倍に向上した。また、デバイス構造の改良により、サルコメア構造の配向性を一定方向に制御でき、より成熟化を促進できることが示された。

### 4. まとめ・独創性

3次元組織の形成、酸素分圧の制御、主要エネルギー源の選択によって、ヒトiPS心筋細胞のマーカー遺伝子の発現が向上した。今後は、この組織を利用してモデル薬物の試験を実施し、従来法との比較を実施することで、その有用性と限界を明らかにしたい。

#### ■ 著者連絡先

横浜国立大学大学院理工学府化学・生命系理工学専攻  
 (〒240-8501 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台79-5 化工  
 安工棟5階)  
 E-mail. sekiwa-takeshi-xd@ynu.jp

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。