

ゼラチン繊維基材を用いたヒト iPS 由来細胞の新規評価系

日本毛織株式会社 研究開発センター 早乙女俊樹

概要

ヒト iPS 由来細胞を医薬品開発に活用するためには、成体の細胞の生理学的・構造的な特性に近づけることが重要である。生体外で成体に近い細胞の特性を得るためには、細胞が接着する培養皿の表面特性の制御や、生体組織のように細胞が 2 次元/3 次元的に組織化した構造を構築することが一つの手段である。本セミナーでは、ゼラチン繊維基材 (Genocel) を用いて、ヒト iPS 由来細胞を 2 次元/3 次元的に組織化させた新しい評価系について紹介する。

ヒト iPS 心筋細胞の機能的成熟化と心収縮評価

ヒト iPS 心筋細胞 (hiPSCCM) は、薬剤による心筋の不整脈リスクの検出や収縮能の評価への活用が期待されている。しかし、収縮能においては、 β 受容体刺激薬や PDE 阻害薬等による収縮力増大効果 (陽性変力作用) に成体心筋と違いがあり、その要因として、hiPSCCM の未成熟性が挙げられる。hiPSCCM をゼラチン繊維基材 (Genocel) 上で培養すると、ゼラチン繊維上に接着した細胞が繊維長軸方向に配向し、成体心筋に近いサルコメア構造が得られるとともに、Genocel が柔軟で変形回復性に優れることから、心筋の自律収縮とともにゼラチン繊維が大きく変形し、hiPSCCM に力学的刺激の付与が可能となる。これにより、Genocel 上で培養した hiPSCCM は培養 3 日目から配向したサルコメア構造が発現し、2 週間培養することで Isoproterenol (β 受容体刺激薬)、Milrinone (PDE3 阻害薬)、Digoxin (Na-K ポンプ抑制薬) の陽性変力作用が確認され、機能的成熟が達成された。また本評価系は長期的な培養下でも安定であり、抗がん剤である Doxorubicin や Nilotinib を 4 日間連続暴露することで、収縮能の低下やアポトーシス、ミトコンドリアの形態変化も観察可能であった。本評価系は、不整脈リスクの評価に加え、心収縮評価、心毒性評価への活用も期待できる。

ヒト iPS 神経細胞を用いた神経ネットワーク構築

ヒト iPS 細胞由来神経細胞 (hiPSCNC) は、中枢神経系の創薬評価において、薬効薬理および副作用検出にすでに用いられている。hiPSCNC を薬物評価に用いるには、安定した神経ネットワーク形成および自発発火パターンの検出が重要である。

hiPSCNC を培養皿に固定した Genocel に播種すると、Genocel 底面に小さな hiPSCNC の凝集体が多数形成され、各凝集体から神経突起が伸展、互いに接続することで、広範囲に太く明瞭な神経ネットワークを構築した。得られた神経ネットワークは、hiPSCNC 凝集体が Genocel を構成するゼラチン繊維に固定されることで剥離せず、構造が長期間維持されていた。2 週間以上培養後、Ca イメージングを行ったところ、神経ネットワーク全体で同期した発火が見られ、4-Aminopyridine、Droperidol、Dopamine の添加により、発火パターンの変化を確認できた。さらに、神経ネットワーク内の離れた箇所の蛍光強度変化を解析することで、観測地点における発火パターンに時間差がみられ、神経ネットワーク内の発火の伝達に関して知見を得ることができた。このように、Genocel 内で hiPSCNC を組織化させることで、神経ネットワークの形成挙動の観察から、得られた神経ネットワーク内の伝導評価まで評価可能であることから、副作用検出に加え、今後ヒト iPS 細胞由来病態神経細胞の特性評価および創薬応用にも活用が期待できる。