

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：新規治療法開発に向けた組織工学的心筋組織による肥大型心筋症の病態解明
2. 研究開発代表者： 松浦勝久（東京女子医科大学 先端生命医科学研究所）
3. 研究開発の成果

### 研究成果の概要：

- ・肥大型心筋症 iPS 細胞(2 株)への大量心筋分化誘導と心筋純化手法の確立
- ・肥大型心筋症 iPS 心筋を用いた細胞シートの作製手法の確立

### 研究成果の内容：

本研究開発は、我々独自の細胞シート工学およびヒト iPS 細胞大量培養技術を基盤とした世界初組織工学的心筋組織機能評価系を用いて、肥大型心筋症 iPS 細胞由来心筋組織の通常状態および各種負荷環境における心筋組織の収縮能・拡張能を評価するとともに、心筋組織および組織を構成する心筋細胞、線維芽細胞の障害・特性解析を行い、肥大型心筋症の創薬ターゲットとなる新規分子標的探索を主たる目的とする。

平成 27 年度は、平成 28 年度に施行予定である組織工学的心筋組織機能評価に向け、肥大型心筋症 iPS 細胞を用いた心筋細胞の安定的な量産と、安定的な心筋細胞・線維芽細胞比率よりなる心筋組織構築のための条件検討を行った。

心筋細胞の量産に関しては、東京女子医大独自開発の 3 次元浮遊攪拌懸濁培養技術を肥大型心筋症 iPS 細胞の心筋分化誘導にも応用し、約 2 週間の培養の後、100mL の培養容器あたり  $1\sim 2 \times 10^8$  個の細胞が安定的に得られることが確認された。

組織工学的心筋組織の機能評価には、心筋細胞自身の機能および組織構成細胞比率の安定化が不可欠である。今回我々は、肥大型心筋症 iPS 細胞に対し、 $\alpha$ MHC-puro-Rex-1-neo 遺伝子をレンチウイルスを用いて導入し、ネオマイシンで純化することで、心筋分化誘導後に心筋細胞を純化できる安定細胞株を樹立した。心筋分化誘導後にピューロマイシンを最適な濃度および時間で添加することで、心筋細胞を約 7 割、線維芽細胞を約 3 割含む心筋シートの量産が可能となった。