

心不全の病態解明を目指した配向制御に伴う心筋細胞同期的収縮制御機構の解明

高田卓磨

東京女子医科大学 循環器内科学分野 先端生命医科学研究所

【研究の背景】

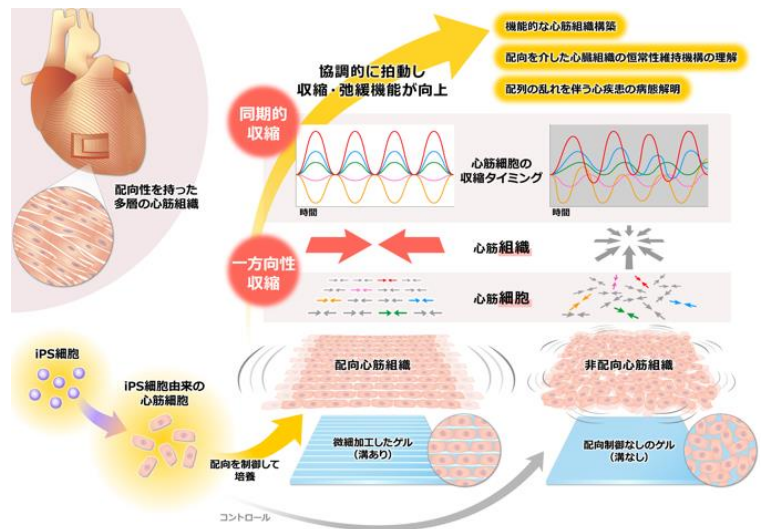
健常生体心臓は配向性を持った多層の心筋組織から構成される。一方で、心不全患者では病初期より心筋組織の配向性の乱れが認められる。しかし、配向性の意義や心筋組織全体の収縮能に与える影響については不明な点が多い。

【目 的】

本研究では、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞 (hiPSC-CM) を用いて配向心筋組織と非配向心筋組織を作成し、配向制御が心筋組織全体の収縮能へ与える影響とその機序を検証した。

【方 法】

フィブリンゲルの表面に逆 V 字型の凹凸 (30 μm 毎に高さ 10 μm) を付与する微細加工技術を開発し、微細加工フィブリンゲル上に hiPSC-CM を播種し配向心筋組織を作成した。配向心筋組織と、微細加工技術を使用しない非配向心筋組織を作成し、配向度ならびに収縮能を比較した。配向度は免疫染色組織像にフーリエ解析を加え、健常成獣ラット心臓の値とも比較した。収縮能は、収縮力、最大収縮速度、最大弛緩速度を評価し、RT-PCR、運動解析、代謝解析、RNA-seq、ウェスタンブロット (WB) にて機序の検証を行った。得られた結果に対しアデノ随伴ウイルス (AAV) を用いて配向制御により変化を伴った因子を制御し、心筋組織の機能的変化も検証した。



【結 果】

配向心筋組織の心筋細胞の配向度は、非配向心筋組織よりも有意に上昇し健常成獣ラットの心臓組織の配向度と近似であった。非配向心筋組織と比較し配向心筋組織の収縮能は全て統計学的に有意に上昇した。いくつかの心筋特異的遺伝子発現は、配向心筋組織に高い傾向であったが有意差を認めなかった。運動解析にて配向心筋組織は、非配向心筋組織と比較し有意に一方方向に収縮し、多点において同期的に収縮していた。代謝解析にてグルコース消費量は2群で同等であり、グルコース消費量あたりの力積は配向心筋組織で2倍程度高値であった。これらの結果から、配向制御は個々の細胞レベルの成熟には依存せず、一方方向性に同期的収縮を介して心筋組織全体としての収縮能の向上に寄与することを報告した¹⁾。裏を返せば、非配向心筋組織では、配向性の乱れにより収縮同期性が低下し、収縮能が低下したとも考えられた。そ

こから心不全を含む配向の乱れを伴う心疾患では、心筋組織の局所において心筋細胞の収縮非同期性が生じ、心臓全体の収縮能の低下を来すと仮説を立て、配向制御による同期的収縮促進因子の同定を行うこととした。RNA seq では候補因子を同定できなかったが、WB にて配向心筋組織における Cx43 の上昇が認められた。そこで AAV を用いて非配向心筋組織の GJA1 遺伝子を過剰発現させたが、収縮能の向上は認めず、WB による Cx43 の上昇も認められなかった。

【考 察】

微細加工技術を用いてヒト iPS 細胞由来配向心筋組織の作成に成功した。作成した配向心筋組織は健常成獣ラット心筋組織と同等の配向度を示し、健常心筋に近い組織での評価が可能であった。配向制御により心筋細胞は、一方向性に周囲と同期的に拍動をすることで心筋組織全体の収縮特性の向上に寄与すると考えられた。代謝解析から、配向心筋組織におけるエネルギー効率の上昇も示された。非配向心筋組織と比較し、配向心筋組織では同期的収縮の代表タンパク質の一つである Cx43 の上昇が認められたが、AAV を用いて GJA1 遺伝子を過剰発現させても収縮能や Cx43 の上昇を認めず、翻訳後修飾の影響が考えられた。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

正常心筋組織の配向性の機能的意義は、同期的収縮を介した組織全体の収縮能の向上であり、逆に配向性が乱れた不全心筋では、それらが機能しなくなる可能性がある。配向の乱れは心不全発症前から認められ、生存率が低下する心不全 Stage C では、配向の乱れだけでなく収縮同期不全も報告されている。配向制御による同期的収縮を制御する因子として、Cx43 の翻訳後修飾が候補因子として挙げられ、配向の乱れを伴う心不全の新たな病態解明や治療介入標的への発展が期待される。

【参考・引用文献】

(1) Takada et al. Biomaterials. 2022 Feb;281:121351.