

生体内心臓イメージングを用いて心筋細胞での遺伝子機能を in vivo で評価する革新的なシステムの構築

増山 潔

大阪大学大学院医学系研究科 循環器内科学

【研究の背景】

心臓は動的な臓器であるため生体内で比較する手法による評価が理想的であるが、技術的な問題から今までは固定後の評価や培養細胞での評価が主流であった。そのため、生体内で心筋細胞を評価するシステムを構築することで従来以上の知見が得られる可能性は大きい。我々は遺伝子改変マウスと in vivo イメージングと組み合わせて心筋細胞の配向性を評価し、拡張型心筋症マウスで配向性のねじれの消失を可視化した¹⁾。

【目 的】

本研究では、in vivo イメージングを用いた生体内での心筋細胞における遺伝子の機能を三次元的・動的評価法を確立することを目的とする。

【方 法】

まずは細胞膜が赤く標識される蛍光レポーターマウスを二光子顕微鏡で観察し、時間分解能・空間分解能の高い画像を取得した。その後圧負荷心不全モデルを作成し、経時的に心機能を心エコー図でフォローしたのちに、二光子顕微鏡を用いて観察した。さらに同一個体内で機能的には同じものの 2 つの種類異なる蛍光を発する心筋細胞が混在したマウスを作成し、それぞれの心筋細胞間で収縮能や大きさなどの比較をした。

【結 果】

まずは蛍光レポーターマウスを観察し、評価可能な観察条件を検討し、心筋細胞の収縮力を測定できる系を確立した。その後、アンジオテンシン負荷で心不全マウスを作成し、対照マウスと比較を行った。心エコー図でフォローしたところ心肥大と収縮力低下が確認された。そのマウスを二光子顕微鏡で観察したところ疾患マウスでは心筋細胞の大きさが拡大し、心筋細胞レベルでの収縮力が低下していることが確認された。

同様の実験を機能的には同じもの異なる蛍光を発する心筋細胞が混在するマウスで試行したところ、蛍光の違いのみでは収縮力に違いを認めないことを確認した。また、病的負荷を加えても結果は同様に蛍光間での差は認めなかった。

【考 察】

今回の研究では二光子顕微鏡を用いて遺伝子改変マウスの心臓を観察することで、生体内での心筋細胞レベルでの機能評価が行える系を確立した。また正常状態と病的負荷をかけた状態での変化も捉えることと、異なる蛍光を発する心筋細胞が混在する心臓においても双方の心筋細胞の観察に成功し、機能的には同じと想定される心筋細胞が正常状態と病的負荷をかけた際にも蛍光の種類では変化を来さないことを確認した。

現在、機能を有する遺伝子の有無による異なる蛍光を発する心筋細胞での観察を行っており、当該遺伝子の心筋細胞で

の変化を観察することが可能になることが期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

今までにないアプローチによる心筋症の治療ターゲット探索であり、新規治療ターゲットが見つかることが期待される。さらにこのイメージング技術はあらゆる遺伝子に応用できることが可能であり、多様な疾患の病態解明に繋がる将来性を有する技術である。また炎症細胞のトラッキングや神経興奮を捉えるイメージング技術と合わせることで心疾患や多臓器との関連に迫る発展性を有する。

【参考・引用文献】

1. Masuyama K, Higo T, Lee JK, Matsuura R, Jones I, Bacal C, Higo S, Morimoto S, Miyagawa S, Sawa Y, Sakata Y
Homogeneous 2D and 3D alignment of cardiomyocyte in dilated cardiomyopathy revealed by intravital heart imaging. Sci Rep. 2021 Jul 19;11(1):14698.