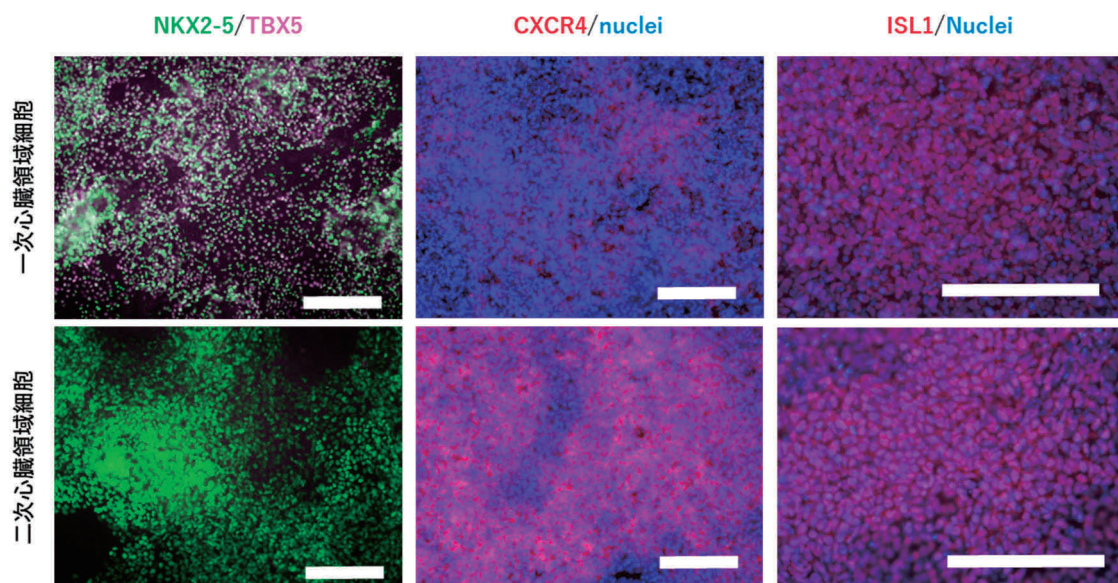


【目的】心筋細胞に効率よく分化するヒト ES/iPS 細胞由来心臓前駆細胞は、心不全治療のツールとして期待される。胎生期に心臓前駆細胞によって形成される心臓予定領域に、一次心臓領域と二次心臓領域がある。一次心臓領域細胞が原始心臓構造を形成し、その後、二次心臓領域細胞が原始心臓構造に向かって遊走し、心臓の伸長に寄与する。一般的に、二次心臓領域細胞は、増殖能および遊走能が高い前駆細胞であることが知られており、移植による心不全抑制効果が期待される。そこで、移植細胞のソースとして、ヒト iPS 細胞から一次心臓領域細胞および二次心臓領域細胞の誘導を試みた。加えて、異なる種類の細胞移植の生着を、非侵襲的に定量比較できるシステムの準備を行った。

【方法】Lian たちが報告した GSK3 阻害剤と Wnt 阻害剤を用いた心筋細胞分化誘導法である GiWi プロトコール (Proc Natl Acad Sci U S A. 2012) をベースとした心筋分化誘導法を用いて、ヒト iPS 細胞から一次心臓領域と二次心臓領域を誘導した。そしてこれらの心臓予定領域細胞に含まれる未分化細胞を Brequinar 添加によって除去した。また、移植後の生着を非侵襲的に定量的に評価するために、核医学イメージングで検出可能な機能付加ヒト iPS 細胞株を作製した。

【結果】GiWi プロトコールでは、一次心臓領域細胞に相当する NKX2-5⁺/TBX5⁺心筋前駆細胞が主に誘導されることがわかった。次に、GSK3 阻害剤にインスリンあるいは BMP 阻害剤を添加すると、二次心臓領域細胞に相当する NKX2-5⁺/TBX5⁻心筋前駆細胞が主に誘導された。複数のヒト iPS 細胞株でこの方法の再現性を確認した。誘導された一次心臓領域細胞には、未分化マーカーである NANOG⁺細胞の混入を認めなかったが、二次心臓領域細胞には、NANOG⁺細胞の混入を認めた。そこで Al-Akashi らが iPS 細胞由来間葉系幹細胞から未分化細胞を除去するのに使用した Brequinar (Front Cell Dev Biol. 2023) を添加することで NANOG⁺細胞を除去できることがわかった。移植後の細胞生着を SPECT で定量的に経時的に評価するために、ナトリウム・ヨード共輸送体を恒常的に発現するヒト iPS 細胞を作製した。この共輸送体によって、細胞が ¹²⁵I、¹⁸F-tetrafluoroborate、^{99m}TcO₄⁻といった放射性トレーサを取り込むことができ、SPECT で検出することができた。今後はこの細胞株を用いて一次心臓領域細胞および二次心臓領域細胞を誘導し、心不全モデルラットに移植する予定である。

ヒト iPS 細胞由来一次心臓領域細胞および二次心臓領域細胞



Bar = 200 μm.