

ヒト iPS 三次元心組織を用いた心不全の新規病態、治療法の開発

谷 英典

慶應義塾大学

【研究の背景】

心不全に関する研究は、主に左室収縮能が低下している心不全(Heart failure with reduced ejection fraction: HFrEF)を対象に進められてきたが、近年左室収縮能が保たれている心不全(Heart failure with preserved ejection fraction: HFpEF)の臨床的特徴や治療、予後に関する報告も増えてきた。HFpEF は拡張不全が主体であり、高齢者に多く、高血圧症や心房細動の合併が多いとされ、患者比率が HFrEF を上回って増加しているが、未だ確固たるエビデンスのある治療法が確立していない。病態としては、血管内皮障害、特に内皮型一酸化窒素合成酵素 (endothelial nitric oxide synthase; eNOS) の機能障害が主因と考えられており、全身性に酸化ストレスや炎症が惹起された結果、血管内皮の障害が起き、eNOS が関与するシグナル伝達経路 (eNOS-NO-cGMP-PKG 経路) が障害され、左室の拡張障害が生じ、HFpEF の発症に繋がるというのが近年の定説である。動物においては HFpEF モデルとして肥満や II 型糖尿病の病態を有するモデルが使用され、近年では 高脂肪食と NOS 阻害薬の二重の負荷によってよく再現されることがわかってきた¹⁾。しかしながら、ヒトにおいてはこうしたモデルは確立しておらず、機序の解明や治療薬の開発が急務となっている。

【目 的】

我々はこれまでにヒト iPS 由来心筋細胞を用いて創薬や病態モデルに応用すべく、ブタ心臓コラーゲンを用いた三次元心組織の開発を進め、従来の方法よりも形状維持能が高く、収縮/拡張力の強い成熟化した心組織を作ることに成功した²⁾。本研究では、こうした成熟度の高いヒト iPS 由来心組織において 高脂肪酸と NOS 阻害薬の添加培地で HFpEF モデルのヒト心組織を作製し、心不全の新規病態機序の解明や治療薬の発見に応用することを目的とする。

【方 法】

ヒト iPS 細胞由来の心筋細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞を用いて EHT (Engineered Heart Tissue) と呼ばれる三次元心組織を作製した。安定した収縮が得られた後に、高濃度の脂肪酸と NOS 阻害薬を添加した培地 (心不全培地) 条件で EHT を培養し、ライブセルイメージングシステムを用いて経時的に収縮/拡張能を評価した。一定期間の培養後、組織から RNA やタンパクを抽出して遺伝子解析を行い、免疫染色や電子顕微鏡での形態学的評価を行った。

【結 果】

心不全培地条件下では、対象群と比較して EHT の 収縮能は保たれる一方で、脂肪酸と NOS 阻害薬の濃度依存性に経時的に拡張能が低下することを確認した。組織像の評価では線維化や脂肪滴の蓄積、破壊されたミトコンドリア像などが確認され、タンパクや遺伝子の発現を比較したところ、マウスの HFpEF モデル同様に eNOS-NO-cGMP-PKG 経路が抑制されていることが確認された。さらに遺伝子発現の比較でタイチンの isoform が N2BA より N2B 優位になり、コラーゲンが type1 優位になることを確認した。

【考 察】

本研究では、培養皿上のヒト iPS 細胞由来の三次元心組織において培地条件を変えることで生体内の心筋で起こる変化を模倣した拡張能の低下を再現することに成功した。また、この心組織の解析の結果、線維化や炎症など既存の報告に矛盾しない変化が起こっていることが確認できた。さらには、こうした拡張能の低下には、心筋関連タンパクであるタイチンや、細胞外基質であるコラーゲンのアイソタイプの変化による心組織の硬さへの影響が関与することが示唆された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

上述した pathway の変化は既存のヒト生体内や動物実験レベルでの報告に矛盾しない結果である。本研究は培養皿上での再現性の高い心筋の拡張能障害に関する研究のスタンダードとなり、今後新たな病態の解明や、治療法の開発に応用できることが期待される。

【参考・引用文献】

- 1) Schiattarella GG, et al., Nitrosative stress drives heart failure with preserved ejection fraction. *Nature*. 568(7752):351-356, 2019.
- 2) Tani H, Tohyama S, et al: Heart-derived collagen promotes maturation of engineered heart tissue. *Biomaterials*. 299:122174, 2023.