慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	ファイバ状ヒトiPS由来心筋組織が可能とする筋組織収縮力の可視化
Sub Title	Microfiber-shaped human iPS-derived cardiac tissue enables visualization of cardiac contractile force
Author	尾上, 弘晃(Onoe, Hiroaki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	本年度は，ファイバ状hiPS由来心筋組織の収縮力計測法を用いた薬剤応答の評価確立、および成熟化の指標としての拍動伝播速度計測、の2つの研究を実施した． (1) ファイバ状hiPS由来心筋組織の収縮力計測法を用いた薬剤応答の評価 本年度は，昨年度に確立した成熟化ファイバ状hiPS由来心筋組織に対し、陽性および陰性の変力作用を有するIsoprotenolおよびPropranololを暴露し、応答の確認を行った。暴露後に位相差顕微鏡で動画（25 fps）を撮影し、画像処理により心筋組織上の特徴点の自動抽出をすることで、ファイバ状組織の曲がり角度の時間変化を得た。ファイバ状組織の曲がり角度は有限要素法解析による数値計算より、組織の収縮力に変換した。Isoprotenolの暴露により心筋組織の収縮力は上昇し、また逆にPropranololの暴露により、収縮力は下降した。これにより、提案したファイバ状心筋組織の収縮力の計測を実現した。興味深いことに、ファイバ状hiPS由来心筋組織は細く（直径100 μm程度）、わずか0.1 nMのIsoprotenolの暴露に対しても収縮力の上昇が認められた。これは既存の心筋組織の収縮力計測の方法（マイクロピラー法）に比べ、100倍程度の感度であり、本手法の有用性が示された。 (2) 成熟化の指標としての拍動伝播速度計測 形成したファイバ状心筋組織を培養しながら、成熟化指標を評価するために、蛍光ライブイメージングによる収縮伝播速度の計測手法を確立した。hiPSC由来心筋細胞にカルシウム応答緑色蛍光蛋白であるGCaMPを恒常的に発現させ、カルシウムイオンの細胞内濃度を可視化した。心筋細胞の収縮は細胞内カルシウムイオンの流入に同期するため、蛍光シグナルの伝搬速度として収縮伝搬速度を評価した。結果、心筋の成熟が進むにつれて、伝搬速度が上昇することが確認された。以上より、組織を固定などの処理することなく生かした状態で、成熟度を評価することに成功した。 This year, we conducted two studies: (1) establishment of evaluation of drug response of fiber-like hiPS-derived cardiac tissue using contractile force measurement and (2) measurement of contractile propagation velocity as an indicator of maturation. (1) Evaluation of drug response using contractility measurement of fiber-like hiPS-derived cardiac tissue This year, we exposed Isoprotenol and Propranolol, which have positive and negative inotropic activities, to matured fiber-like hiPS-derived myocardial tissue established in the previous year to confirm the drug response. After exposure, movies (25 fps) of the contracting fiber-like cardiac tissues were captured by phase contrast microscopy. Through computational image processing, the temporal changes in the bending degree of the fiber-like tissue were obtained. The bending angle of the fiber-like tissue was converted into tissue contractility by finite element analysis. As a result, the contractility of the cardiac tissue increased with exposure to Isoprotenol and decreased with exposure to Propranolol. This result shows that our proposed system enabled to measure the contractility of fiber-shaped cardiac tissues. Interestingly, since the fiber-like hiPS-derived cardiac tissue was thin (~100 μm in diameter), the increase in contractile force after exposure to only 0.1 nM of Isoprotenol was observed. This result indicates that our method is about 100 times more sensitive than the existing method of measuring contractility of myocardial tissue (for example, the micropillar method), indicating the usefulness of this method. (2) Measurement of contractile propagation velocity as an indicator of maturation To evaluate the maturation index while culturing the formed fiber-like cardiac tissue, we established a method for measuring contraction propagation velocity by fluorescence live imaging. hiPSC-derived cardiomyocytes were modified permanently to express GCaMP, a calcium-responsive green fluorescent protein, to visualize the intracellular concentration of calcium ions. Since myocyte contraction is synchronized with the influx of intracellular calcium ions, the

	contraction propagation velocity can be evaluated as the propagation speed of the fluorescent signal. As a result, it was confirmed that the propagation velocity increased as the myocardium matured. Thus, we succeeded in evaluating the degree of maturity of the tissue while it was intact without fixation or other treatment.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000014-20230003

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2024年12月13日

2023年度　学事振興資金（部門横断型共同研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	理工学部	職名	教授	補助額	2,000千円
	氏名	尾上 弘晃	氏名（英語）	Hiroaki Onoe		

研究課題（日本語）

ファイバ状ヒトiPS 由来心筋組織が可能とする筋組織収縮力の可視化

研究課題（英訳）

Microfiber-shaped human iPS-derived cardiac tissue enables visualization of cardiac contractile force

研究組織

氏　　名 Name	所属・学科・職名 Affiliation, department, and position
尾上弘晃 （Hiroaki Onoe）	理工学部・機械工学科・教授
遠山周吾 （Shugo Toyama）	医学部・循環器内科・専任講師

１．研究成果実績の概要

本年度は，ファイバ状hiPS由来心筋組織の収縮力計測法を用いた薬剤応答の評価確立、および成熟化の指標としての拍動伝播速度計測、の2つの研究を実施した.

(1) ファイバ状hiPS由来心筋組織の収縮力計測法を用いた薬剤応答の評価
本年度は，昨年度に確立した成熟化ファイバ状hiPS由来心筋組織に対し、陽性および陰性の変力作用を有するIsoprotenolおよびPropranololを暴露し、応答の確認を行った。暴露後に位相差顕微鏡で動画（25 fps）を撮影し、画像処理により心筋組織上の特徴点の自動抽出をすることで、ファイバ状組織の曲がり角度の時間変化を得た。ファイバ状組織の曲がり角度は有限要素法解析による数値計算より、組織の収縮力に変換した。Isoprotenolの暴露により心筋組織の収縮力は上昇し、また逆にPropranololの暴露により、収縮力は下降した。これにより、提案したファイバ状心筋組織の収縮力の計測を実現した。興味深いことに、ファイバ状hiPS由来心筋組織は細く（直径100 μm程度）、わずか0.1 nMのIsoprotenolの暴露に対しても収縮力の上昇が認められた。これは既存の心筋組織の収縮力計測の方法（マイクロピラー法）に比べ、100倍程度の感度であり、本手法の有用性が示された。

(2) 成熟化の指標としての拍動伝播速度計測
形成したファイバ状心筋組織を培養しながら、成熟化指標を評価するために、蛍光ライブイメージングによる収縮伝播速度の計測手法を確立した。hiPSC由来心筋細胞にカルシウム応答緑色蛍光蛋白であるGCaMPを恒常的に発現させ、カルシウムイオンの細胞内濃度を可視化した。心筋細胞の収縮は細胞内カルシウムイオンの流入に同期するため、蛍光シグナルの伝搬速度として収縮伝搬速度を評価した。結果、心筋の成熟が進むにつれて、伝搬速度が上昇することが確認された。以上より、組織を固定などの処理することなく生かした状態で、成熟度を評価することに成功した。

２．研究成果実績の概要（英訳）

This year, we conducted two studies: (1) establishment of evaluation of drug response of fiber-like hiPS-derived cardiac tissue using contractile force measurement and (2) measurement of contractile propagation velocity as an indicator of maturation.

(1) Evaluation of drug response using contractility measurement of fiber-like hiPS-derived cardiac tissue
This year, we exposed Isoprotenol and Propranolol, which have positive and negative inotropic activities, to matured fiber-like hiPS-derived myocardial tissue established in the previous year to confirm the drug response. After exposure, movies (25 fps) of the contracting fiber-like cardiac tissues were captured by phase contrast microscopy. Through computational image processing, the temporal changes in the bending degree of the fiber-like tissue were obtained. The bending angle of the fiber-like tissue was converted into tissue contractility by finite element analysis. As a result, the contractility of the cardiac tissue increased with exposure to Isoprotenol and decreased with exposure to Propranolol. This result shows that our proposed system enabled to measure the contractility of fiber-shaped cardiac tissues. Interestingly, since the fiber-like hiPS-derived cardiac tissue was thin (~100 μm in diameter), the increase in contractile force after exposure toonly 0.1 nM of Isoprotenol was observed. This result indicates that our method is about 100 times more sensitive than the existing method of measuring contractility of myocardial tissue (for example, the micropillar method), indicating the usefulness of this method.

(2) Measurement of contractile propagation velocity as an indicator of maturation
To evaluate the maturation index while culturing the formed fiber-like cardiac tissue, we established a method for measuring contraction propagation velocity by fluorescence live imaging. hiPSC-derived cardiomyocytes were modified permanently to express GCaMP, a calcium-responsive green fluorescent protein, to visualize the intracellular concentration of calcium ions. Since myocyte contraction is synchronized with the influx of

intracellular calcium ions, the contraction propagation velocity can be evaluated as the propagation speed of the fluorescent signal. As a result, it was confirmed that the propagation velocity increased as the myocardium matured. Thus, we succeeded in evaluating the degree of maturity of the tissue while it was intact without fixation or other treatment.

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）
Yuta Kurashina, Keisuke Fukada, Shun Itai, Shuichi Akizuki, Ryo Sato, Akari Masuda, Hidenori Tani, Jun Fujita, Keiichi Fukuda, Shugo Tohyama, Hiroaki Onoe	Hydrogel-sheathed hiPSC-derived heart microtissue enables anchor-free contractile force measurement	Advanced Science	Oct., 2023