

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	森 脇 大 順
主 論 文 題 名				
Scalable production of homogeneous cardiac organoids derived from human pluripotent stem cells (高均質性を有したヒト多能性幹細胞由来心臓オルガノイドの大量作製法の開発)				
(内 容 の 要 旨)				
三次元培養は二次元培養と比べ、より生体内における表現型を模倣することができることが知られており、再生医療や創薬研究においてその活用が期待が高まっている。このため、ハンギングドロップ法やスピナーフラスコ法など様々な三次元培養法がこれまでに開発されてきたが、高均質な三次元組織を簡便かつ大量に作製することのできる手法は非常に限られているのが現状である。そこで本研究では、以上の三次元組織の高均質性、手法の簡便性、大量作製の実現性を満たす手法として”吸引法”を開発した。本手法はTiO₂セラミックスで形成された多孔質な担体を三次元組織の作製基盤とし、真空容器を用いて担体の下方へ細胞懸濁液を吸引することにより、細胞を担体の各ウェルの底へ早期に凝集させる方法である。この吸引法で作製された三次元組織が他の手法と比較してどの程度高均質かつ高効率に作製することができるのかを評価した。 まず初めにヒト人工多能性幹細胞 (human induced pluripotent stem cells : hiPSC) 及び hiPSC由来心筋細胞 (hiPSC-derived cardiomyocytes : hiPSC-CM) を用いて各々スフェロイドを作製し、スフェロイドの均質性と作製効率を評価した。その結果、いずれのスフェロイドにおいても吸引の操作をしない自然沈降法に比べて吸引法でより高均質かつ高効率にスフェロイドを作製することに成功した。さらに、現在広く使用されているマイクロウェルプレートやスピナーフラスコを用いた既存の手法と比較すると、吸引法では同等以上の高均質性を有したスフェロイドを作製することができた。また、我々は心臓再生医療におけるhiPSC由来心筋スフェロイド (hiPSC derived cardiac spheroids : hiPSC-CS) 移植の実用化へ向けて、一度に四万個程度のスフェロイドを作製可能な大型担体を作製しhiPSC-CSを作製したところ、これまでの結果と同様に吸引法で高均質なhiPSC-CSを高効率に作製することに成功した。次にhiPSC-CM、心臓線維芽細胞、そして血管内皮細胞を混合させて心臓オルガノイドを作製した。この心臓オルガノイドにおいても吸引法で高均質かつ高効率に作製することに成功した。最後に吸引法の応用として、hiPSCから分化誘導させた心室筋細胞と心房筋細胞をタイミングをずらして吸引することにより、心室筋組織と心房筋組織を別々の部位に局在化させた心臓オルガノイドの作製に成功した。 以上により、本吸引法は様々なスフェロイドやオルガノイドを高均質かつ高効率に作製できる手法であり、今後再生医療の具現化や創薬研究の発展に貢献する技術であると確信している。				