

図3 *in vitro*におけるhESC-CMの伝導遅延改善効果(文献<sup>15)</sup>より引用改変)

ラット胎児心筋細胞上にhESC-CMを播種することにより、電気伝導速度が改善している。しかし、心筋細胞以外の細胞では伝導速度の増加はみられなかった。hEBC: non-beating embryoid bodies, hESC-CM: ヒトES細胞由来心筋細胞

cardiomyocyte; hESC-CM) がラット胎児心筋細胞 (neonatal rat ventricular cell; NRVC) と電気的に結合することを報告している<sup>15)</sup>。彼らは、あらかじめまばらに播いておいたNRVC上にhESC-CMを播種し、共培養したところ、それぞれの心筋間でギャップ結合を形成し、培養皿上での細胞興奮の伝導速度が増加することを示している(図3)。さらに*in vitro*上でのspiral wave形成がhESC-CM添加によって抑制されることから、hESC-CMの不整脈抑制効果についても示唆している。Kehatらは、房室ブロックを発症したブタモデルの心室にhESC-CMを移植したところ、心室内異所性補充収縮を観察し、さらに3次元マッピングシステムによってこの補充収縮が細胞移植部位近傍から発生していることを示している<sup>11)</sup>。この報告から、hESC-CMは*in vivo*においても電気的に結合し、さらにバイオリジカルペースメーカーとしても機能しうることが示唆される。しかし、この研究では実際に移植心筋細胞がペースメーカーとして機能し、宿主心筋細胞と電気的に結合しているかどうかについては直接的には証明されていない。また、用いられた動物は傷害されていない正常心筋における検討であった。

筆者らは、グラフト心筋細胞と宿主心筋細胞の電気的結合を評価するため、健常モルモットモデルおよび心筋傷害モルモットモデルを用いて検討を行った<sup>16)</sup>。*in vitro*において、hPSC-CMは4 Hz (240回/分)までの電気的刺激に反応し収縮することが知られている。モルモットの心拍数が200~250回/分であるため、このモデルでは生理的状态においてグラフト-宿主間の電気的結合を評価することが可能である。グラフト心筋細胞の収縮を宿主心臓内で可視化するため、蛍光カルシウムセンサーであるGCaMP3をhESC-CMに遺伝子導入し、心筋細胞を作製したところ、この細胞は収縮期に一致して緑色蛍光蛋白の蛍光発色の増強が確認された(図4)<sup>16)</sup>。この細胞をモルモットの健常心筋または傷害心筋に移植した。健常心筋にGCaMP3陽性hESC-CMを移植した場合には、すべての心筋グラフトがホ

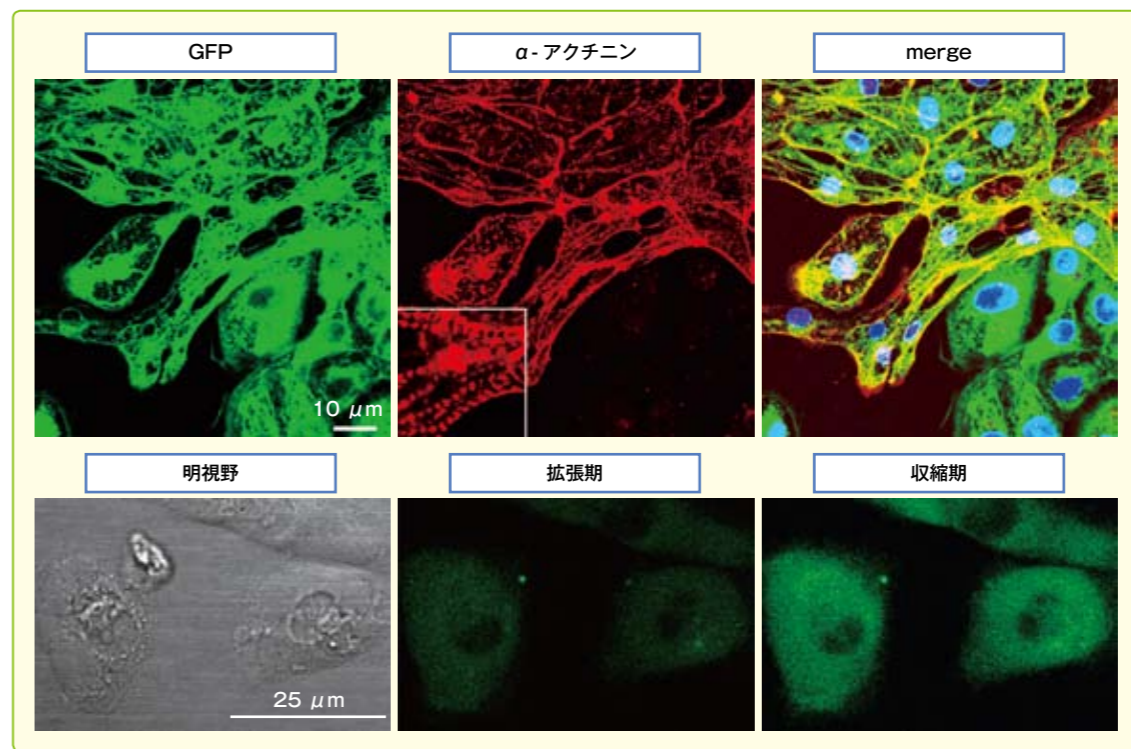


図4 蛍光カルシウムセンサーGCaMP3陽性ヒトES細胞由来心筋細胞(文献<sup>16)</sup>より引用改変)

GCaMP3は蛍光緑色蛋白(GFP)を含むため、この細胞はGFPおよび心筋マーカーであるα-アクチニンを発現している。さらにこの細胞は、収縮期の細胞質内カルシウム濃度上昇に伴い、GFP蛍光強度が増加する。

行枝結紮 vs cryoinjury), 移植細胞数 ( $3 \times 10^5$  vs  $1 \times 10^5$ ), 移植モデル (異系 vs 同系) についてもそれぞれ異なっており、これらの相違点が相反する結果となっている可能性がある。

## ヒト万能性由来幹細胞移植後の電気生理学的評価

### hPSC-CMは宿主心筋と電気的に結合するか

心筋細胞移植による心筋再生を行う際に、グラフト心筋細胞が宿主心筋細胞と電気的に結合することはきわめて重要である。移植心筋細胞が生着し拍動しても、宿主心筋細胞と結合せず、心臓全体の収縮と一致しなければ、直接的に心収縮力を増強させることは考えにくい。さらに、同期せずに電気的活動を繰り返すグラフト心筋は常に不整脈の発生素地となることが懸念される。

Thompsonらは、*in vitro*においてヒトES細胞由来心筋細胞(human embryonic stem cell-derived

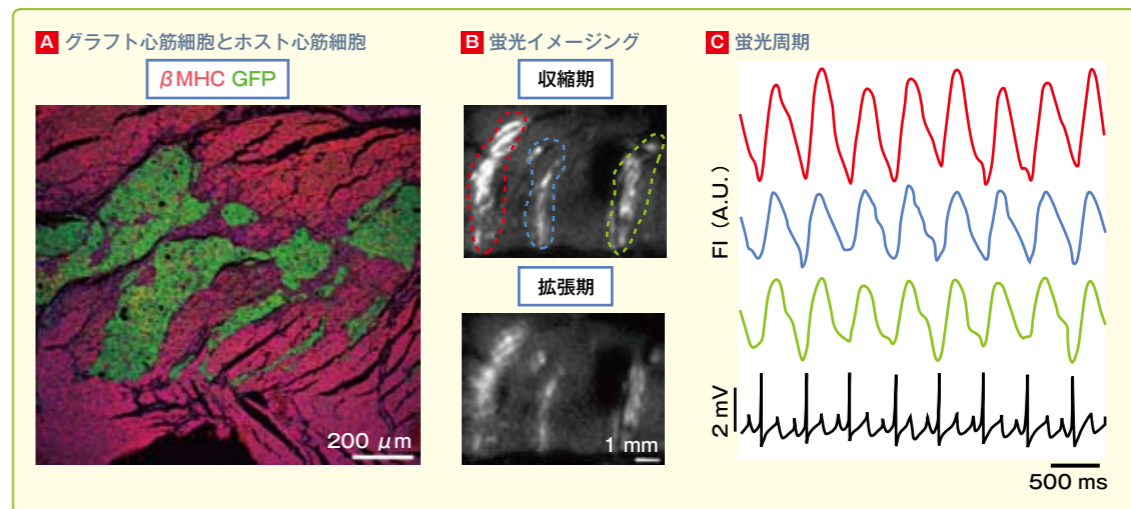


図5 モルモット非傷害心臓に移植されたGCaMP3陽性ヒトES細胞由来心筋細胞(文献<sup>16)</sup>より引用改変)

A: 組織学的にはグラフト心筋細胞(GFP, 緑)は宿主心筋細胞(βMHC, 赤)と連続するように生着している。  
B: 心表面から蛍光イメージングを行うと、収縮時に蛍光強度が増強する3ヵ所のグラフトが存在した。  
C: グラフト心筋の蛍光周期は心電図(黒)と一致しており、これらのグラフト心筋は宿主心筋と電気的に結合しているものと考えられる。FI: 蛍光強度

スト心筋の収縮と1:1で電気的に結合した(図5)<sup>16)</sup>。しかし、心筋傷害モルモットにおいては、多くの心筋グラフトは宿主心筋と電気的に結合するものの、一部の心筋グラフトの収縮は宿主心筋の収縮とは一致しない

ことが明らかとなった。さらに、健常心臓部位の心筋グラフト内の細胞は一律に収縮しているが、傷害心臓における心筋グラフトは、興奮パターンがheterogeneousであることも明らかとなった(図6)。