

《様式B》

研究テーマ	「 疾患モデル構築に向けたヒト血管の開発 」		
研究責任者	所属機関名	岐阜薬科大学	薬効解析学研究室
	官職又は役職	助教	
	氏 名	久世 祥己	メールアドレス kuse-yo@gifu-pu.ac.jp
共同研究者	所属機関名		
	官職又は役職		
	氏 名		

(令和4年度募集) 第35回 助成研究 完了報告書

上記様式記載後

1. 実施内容および成果ならびに今後予想される効果の概要(1,000字程度)

※産業技術として実用化の可能性や特許出願(予定も含む)の有無についてもご記載ください。

大動脈疾患等の大血管障害および脳卒中や心筋梗塞などにおける各臓器の血管障害は致死的な疾患であるが、生体を模倣したヒトモデルが存在せず、正確な病態の理解や新薬開発におけるボトルネックとなっている。

ヒト血管の作製法はいくつか報告されているが、以下3点の課題がある。1) ヒト iPS 細胞由来の平滑筋細胞等は有するが、ヒト iPS 細胞由来の血管内皮細胞の安定的な播種には成功しておらず、組織学的に生体血管とは異なる、2) 血管内皮細胞と平滑筋細胞との相互作用が再現されていない、3) 血管内皮細胞の被覆がないため、移植後に予期せぬ血液凝固・血管閉塞の可能性がある。申請者は、これまでに「ヒト臓器創出を目指した iPS 細胞オルガノイド培養技術プラットフォームの構築」(科研費・基盤 A)などのプロジェクトの分担者として、*in vitro* におけるヒト臓器創出を目指したヒト iPS 細胞由来の血管の開発を進めてきた。具体的には、ヒト iPS 細胞由来の臓器様構造体(オルガノイド)内に血流を模倣した還流培養系を確立すべく、オルガノイドと連結するためのヒト iPSC 血管の開発を進めた。本プロジェクトの基盤技術として開発したヒト iPSC 血管はコラーゲンを基質として、内腔にヒト iPS 細胞由来の血管内皮細胞層、その周囲にヒト iPS 細胞由来の血管平滑筋細胞層から成る *in vivo* 同様の血管構造を持つ。また、コラーゲンを基質としているため、一定の強度を有し、漏洩なく内腔への送液が可能であることを確認している。以上のことから、既存のヒト血管と比較して優位性を有する我々のヒト iPSC 血管を活用した疾患モデルへの応用を目指して、安定的なヒト iPSC 血管の作製法の確立およびその還流培養系の確立を本研究の目的とした。

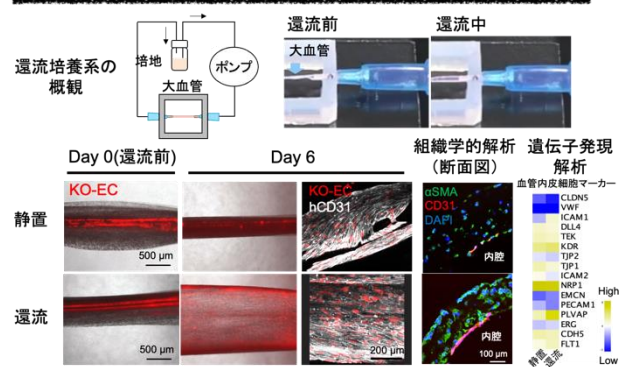
結果として、ヒト iPSC 血管の還流培養系の確立に至り(詳細は2に示す)、以

内腔にECを有するhiPSC大血管の作製に成功

最後に、ペリスタポンプを用いた還流路とヒト iPSC 血管の接続後の還流培養を試みた。ペリスタポンプにより持続的な送液を行うと、血管の内腔が培地で満たされていくことが確認できた（図 3 上段）。また、還流培養後のヒト iPSC 血管を対象に、ヒト血管内皮細胞マーカーである hCD31 のホルマウン

ト免疫染色を行うと、流れに配向するような血管内皮細胞の形態が観察された（図 3 下段）。さらに、血管断面の組織学的解析を行うと血管内皮細胞および血管平滑筋細胞の存在が静置培養時よりも多いことが示唆された（図 3 下段）。遺伝子発現解析の結果からも、還流培養群において、各種血管内皮細胞マーカーの高発現が認められた（図 3 下段）。以上の結果から、将来的に、ヒト血管を対象とした疾患モデルの構築に有益な基盤技術を確立できたと考えられる。

図3 ヒトiPSC大血管の還流培養



還流培養によりSMC/ECの生存が向上