

運動ニューロンからの信号で動く筋組織を再現 ～ALSなどの神経筋疾患の治療法開発に期待～

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学大学院工学研究科の清水 一憲 准教授、山本 一貴 博士前期課程学生、本多 裕之 教授らの研究グループは、愛知医科大学神経内科 岡田 洋平 准教授らとの共同研究で、ヒト神経筋組織モデルを開発しました。

筋萎縮性側索硬化症(ALS)やサルコペニア^{注1)}など、多くの神経筋疾患では発症メカニズムが完全には明らかになっておらず、有効な治療法がほとんどありません。

本研究は、こうした疾患の治療法開発に利用するためのもので、新たに製作した細胞培養用マイクロデバイスを用いて、ヒト筋細胞で作った三次元筋組織^{注2)}をヒト iPS 細胞由来運動ニューロン^{注3)}のスフェロイド^{注4)}と連結させ、同時に培養することに成功しました。これにより、運動ニューロンからの信号で培養筋組織の収縮を誘導し、その収縮力を測定することができました。さらに、運動ニューロンの細胞体^{注5)}や軸索^{注6)}、筋組織に対して、個別に薬剤を添加したり、物理刺激を負荷したりすることができることを実証しました。

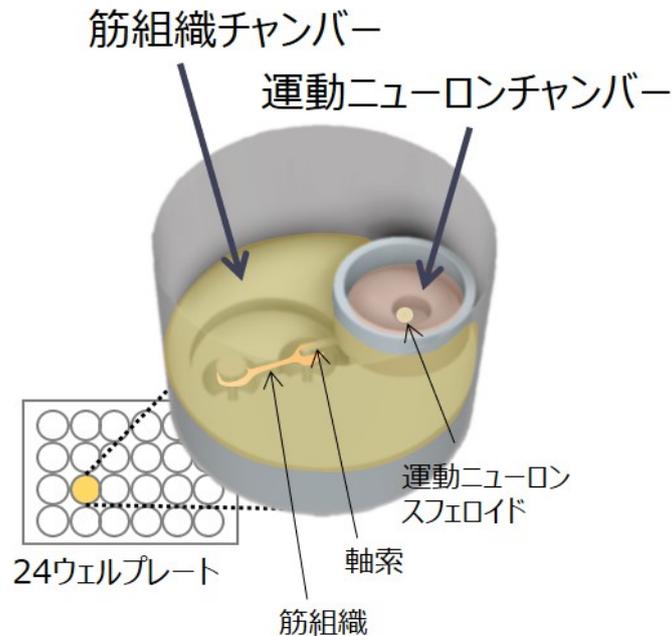
本研究で開発した技術は、様々な神経筋疾患の発症メカニズムの解明や治療薬の開発に役立つことが期待されます。

本研究成果は、2021年4月7日付で英国王立化学会が出版する雑誌『Lab on a Chip』に掲載されました。

本研究は、科研費の挑戦的萌芽研究、若手研究(A)、国際共同研究加速基金(国際共同研究強化)、基盤研究(B)、新学術領域研究”分子夾雑の生命化学”及び公益財団法人カシオ科学振興財団、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の助成を受けたものです。

【ポイント】

- ・ ヒト神経筋組織モデルの開発に成功した。
- ・ 運動ニューロンからの信号で動く筋組織を構築し、その収縮力を測定することができた。
- ・ 運動ニューロンの細胞体や軸索、筋細胞に、個別に化学刺激や物理刺激を加えられることを実証した。
- ・ 様々な神経筋疾患の基礎研究や治療薬開発への利用が期待される。



【研究背景と内容】

生体の自発的な運動は、運動ニューロンからの信号が骨格筋に伝わることで誘導されます。生体では、下位運動ニューロンの細胞体は脊髄中に存在し、そこから軸索が骨格筋へと伸び、軸索末端は骨格筋細胞と神経筋接合部^{注7)}を形成しています(図1)。筋萎縮性側索硬化症(ALS)や球脊髄性筋萎縮症(SBMA)、サルコペニアなどの様々な神経筋疾患は、運動ニューロンや神経筋接合部、骨格筋に何らかの悪影響を及ぼします。これにより身体の運動機能が損なわれ、生活の質が大きく低下し、疾患によっては死に至ることがありますが、多くの神経筋疾患で有効な治療法がほとんどありません。

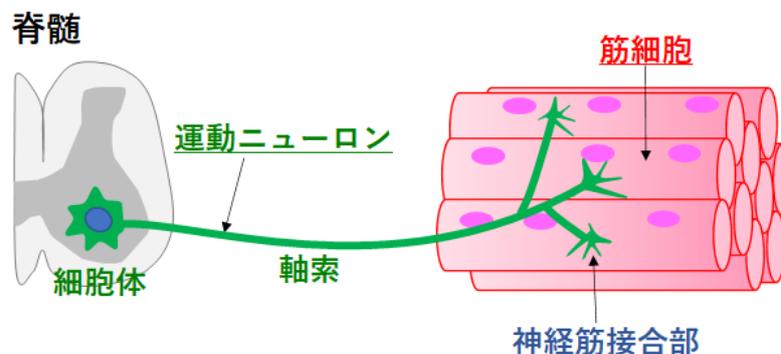


図1 生体内の運動ニューロン、神経筋接合部、筋細胞の配置

本研究では、こうした神経筋疾患の発症メカニズム解明や治療薬開発に応用するための神経筋組織モデルを開発しました。モデル開発にあたり、特に次の三つの仕様を満たすことが重要と考えました。

1. 運動ニューロンからの信号で収縮する培養筋組織の収縮力が測定できる。
2. 生体内を模倣し、運動ニューロンの細胞体と筋細胞の位置を長期間分離して培養できる。
3. 運動ニューロンの細胞体や軸索、筋組織に対して、それぞれ個別に薬剤添加や物理刺激負荷ができる。

これまでに、神経筋組織モデルを作製する技術がいくつか報告されていますが、我々の知る限り、上記三つの仕様を十分に満たすものはありません。これら三つの仕様を満たすモデルを開発することができれば、より生体に近い機能を持ち、従来法では不可能であった機能評価が可能な神経筋組織モデルになると期待されます。

今回の研究では、細胞培養マイクロデバイスを新たに製作し、それを用いて神経筋組織モデルを構築しました(図2)。マイクロデバイス上で、ヒトiPS細胞由来運動ニューロンのスフェロイドと、ヒト筋細胞で構築した培養筋組織を同時に培養しました。筋組織チャンバーに、収縮力測定用マイクロポストを作製しました。これにより、培養筋組織が収縮すると、マイクロポストが動き、その変位量から培養筋組織の収縮力を測定可能になりました(仕様1を達成)。また、軸索伸長流路先端に、運動ニューロンの細胞体や筋細胞は通過できず、軸索だけが通過できるマイクロトンネル(高さ3 μm 、幅10 μm)を複数作製しました。これにより、二種類の細胞の位置を長期に分離しながら、軸索だけが筋組織に到達して、神経筋接合部を形成した状態で同時に培養することが可能になりました(仕様2を達成)。運動ニューロンチャンバーに軸索刺激流路を作製しました。これにより、運動ニューロンの細胞体や軸索、筋組織に対して、個別に薬剤添加や物理刺激負荷が可能になりました(仕様3を達成)。

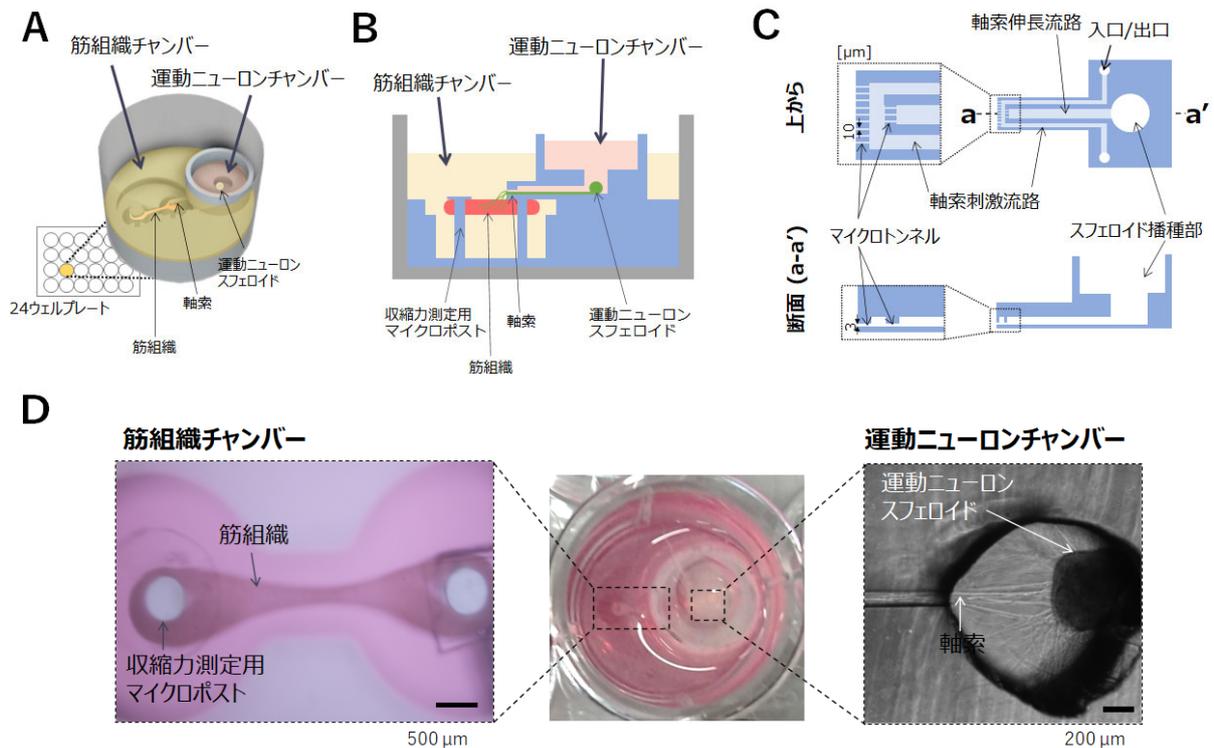


図2 本研究で開発したヒト神経筋組織モデル

- A) 神経筋組織モデルの立体概略図、B) 神経筋組織モデルの断面概略図、C) 運動ニューロンチャンバーの設計、D) 構築した神経筋組織モデルの顕微鏡観察結果

【成果の意義】

本研究で開発したヒト神経筋組織モデルを用いると、筋組織の収縮力を指標にして、運動ニューロンの細胞体や軸索、筋細胞の、それぞれに作用する薬剤候補化合物の効果を長期的に評価できると考えられます。市販の24ウェルプレートに適合した設計のため、比較的容易に薬効評価の操作が可能です。様々な疾患由来の、運動ニューロンや筋細胞を用いることで、広範な神経筋疾患に対する治療法開発に利用できると期待され、本モデルの社会実装が望まれます。

【用語説明】

注1)サルコペニア:加齢により筋肉量が減少し、筋力や身体機能が低下した状態。

注2)ヒト筋細胞で作った三次元筋組織:ヒト筋細胞を足場となるハイドロゲルに混ぜて立体的に培養した組織。

注3)ヒトiPS細胞由来運動ニューロン:ヒトの人工多能性幹細胞を分化誘導して作製した運動ニューロン。

注4)スフェロイド:培養細胞が集まった小さな塊。

注5)細胞体:運動ニューロンの中で核などの細胞内小器官が集中し、樹状突起と軸索が会

合する部位。

注6) 軸索: ニューロンの細胞体からでる細長い突起。ニューロンの信号を伝える役割を担う。

注7) 神経筋接合部: 運動ニューロンの軸索末端と筋線維の間に形成されるシナプス。

【論文情報】

掲載紙: Lab on a Chip

論文タイトル: Development of a Human Neuromuscular Tissue-on-a-Chip Model on a 24-Well-Plate-Format Compartmentalized Microfluidic Device

著者: Kazuki Yamamoto¹, Nao Yamaoka¹, Yu Imaizumi¹, Takunori Nagashima¹, Taiki Furutani¹, Takuji Ito², Yohei Okada², Hiroyuki Honda¹, Kazunori Shimizu¹

¹ 名古屋大学大学院工学研究科生命分子工学専攻

² 愛知医科大学神経内科

DOI: 10.1039/D1LC00048A

URL: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/LC/D1LC00048A#!divAbstract>