

# 寺本彰、阿部康次

目的別テーマ：天然繊維の高機能化と応用

17 年度研究テーマ

15-2-6：幹細胞培養用基材の開発と幹細胞の分化制御に関する研究

## ABSTRACT

*Embryonic stem (ES) cells have a pluripotent ability to differentiate into a variety of cell lineages in vitro. In this study, we will discuss the differentiation of ES cell cultured with low intensity ultrasound (US). With the US, ES cells differentiated to various types of tissue cells than that on the tissue culture dish (TCD). Moreover, alizarin red S positive cells appeared. This indicates that the differentiation of ES cells to osteoblast like cells was promoted by US. As a result it was suggested that exposure to US effect the differentiation of ES cells.*

## 研究目的

ES 細胞は多分化能と自己複製能を有することから、再生医療への応用が期待されている。そのためには、目的とする組織へ選択的に分化させることが重要であり、近年、液性因子の添加や他の細胞との共培養などによる分化制御の研究が盛んに行われている。しかし、メカニカルストレスがES細胞の分化へ及ぼす効果について検討した例はほとんどない。本実験では、メカニカルストレスの1つである低出力超音波パルス照射条件下でES細胞を培養し、その分化挙動について検討を行った

## 一年間の研究内容と成果

培養1日目には、全てのEBsはフラスコに接着し、超音波を照射しても剥離は生じなかった。形態観察を行ったところ、照射群では、未照射群に比べ、発達した拍動部位や蠕動運動部位が観察された。培養20日目、30日目にこれらのEBsの分化挙動の評価を行った。ICG染色やDTZ染色では、培養日数や超音波照射の有無に関わらず陽性細胞が確認されたものの、両群に有意差は認められなかった。アゾ染色では、培養20日目の照射群において濃く染色された細胞が確認されたのに対し、未照射群では薄く染色された細胞しか確認されなかった。培養30日目では、超音波照射の有無に関わらず濃く染色された細胞が観察された。さらに、アリザリンレッドS染色では、照射群でのみ、陽性細胞が確認された。これらの結果より、超音波を照射することでEBsは骨組織への分化が促進されていることが示唆された。

培養20日目、30日目にRT-PCR法による評価を行ったところ、特に骨組織や、心筋細胞などの中胚葉系のマーカーが、超音波を照射したEBsでより強く発現していた(Fig. 1)。これらの結果より、mRNAレベルでも超音波照射により、中胚葉系組織(心筋細胞、骨組織)への分化が促進されていることが示された。

## 展望

超音波は主にEBsの中胚葉系組織(心筋細胞、骨組織)への分化に影響を及ぼすことが示された。今後、超音波の照射条件を変化させ、より詳細な検討を行っていく。

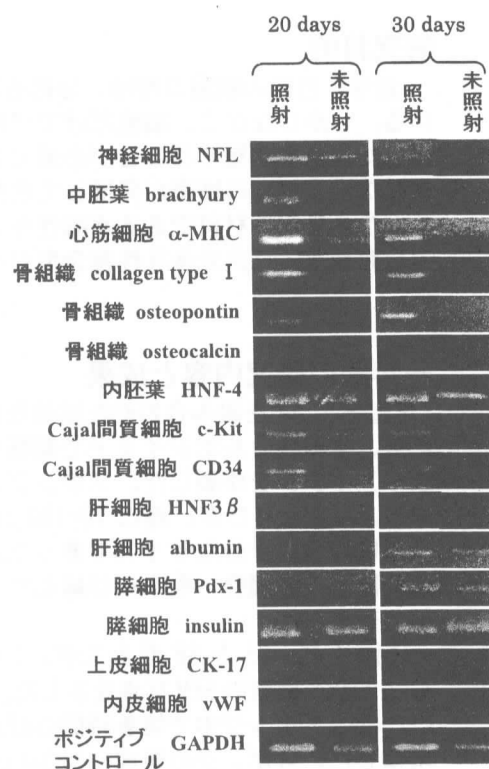


Fig.1 RT-PCR analysis of EBs following exposure to ultrasound at 20 days and 30 days.