

氏名 阿部康次、藤井 敏弘、寺本 彰

目的別テーマ：天然繊維の高機能化と応用

15年度研究テーマ

15-2-5 : 天然多糖類の高機能化と医用材料への応用

ABSTRACT

We have already studied that polyelectrolyte complex (PEC) composed of polysaccharides could control function of several cells. In this study, functional control of chondrocyte (ATDC5) in vitro was discussed by measuring cell morphology, cell growth and cell differentiation on PEC coating dishes. The cell on PEC coating dishes containing carboxyl groups formed cell aggregate, and the production of cartilage matrix and typeII collagen of ATDC5 were promoted. Therefore, the PEC seemed to be useful as a functional culture material of a chondrocyte.

研究目的

軟骨は再生能力が極めて乏しいため、いったん損傷を受けると、正常な機能と構造をもつ軟骨組織を再生することは非常に困難である。これまで、関節症などのため軟骨を損傷した場合、主に人工関節に代替する治療がとられてきた。しかしながら、金属や合成高分子からなる人工関節は、組織親和性、耐久性などの問題を抱えており、体内で長期にわたり使用するには改善しなければならない問題も多い。そのため近年、自家軟骨細胞移植のようなティッシュエンジニアリング技術による再生医療が注目されている。このような再生医療の発展には、生体外においては細胞を効率よく培養することができ、また、生体内においては細胞を目的の場所に留めるための足場として利用できる生体適合性の高いバイオマテリアルの開発が不可欠とされている。我々は生体内で様々な生理反応に深く関与している多糖類に着目し、天然に存在する多糖類を複合化、また必要に応じ化学修飾を加えることにより医療分野で応用性に優れる素材の開発を目的としている。

一年間の研究内容と成果

生体内における組織の細胞は、細胞外マトリックス(ECM)と呼ばれる生体高分子の集合体に囲まれて存在している。そのため、反対電荷を有する多糖類を混合することによって形成される高分子集合体である多糖系高分子電解質錯体(PEC)は、細胞組織との高親和性が期待される。軟骨細胞に分化する能力を有している間葉系細胞である ATDC5 は、一般に用いられている培養基材(TCD)上では伸展し増殖する。ポリカチオンとしてキトサンを用い、硫酸基やリン酸基を導入したアニオン性多糖類とから形成させた PEC(S,P 系 PEC)上で培養した場合、ATDC5 は TCD と同様な増殖挙動を示した。これに比べ、カルボキシル基を有するアニオン性多糖類と形成させた PEC (C 系 PEC) 上においては、ATDC5 は凝集塊を形成しながら増殖した。軟骨細胞が特異的に分泌する軟骨基質である酸性ムコ多糖類を染色する Alcian blue 法により ATDC5 を染色すると、伸展形態を示した S,P 系 PEC および TCD 上の細胞は全体が薄く染色された。これに対し、C 系 PEC 上で形成された凝集塊は、凝集塊の中心付近が濃い色で染色されており、凝集塊に含まれる細胞が盛んに軟骨基質である酸性ムコ多糖類を産生していることが示された。また軟骨細胞に特異的な II 型コラーゲン、Aggrecan の mRNA の発現を検討したところ、凝集塊を形成する C 系 PEC 上の細胞のみ、培養 7 日目において II 型コラーゲンの mRNA 発現が観察された。さらに、培養 10 日目において、凝集塊を形成するグループの細胞のみから Aggrecan の mRNA 発現が観察された。このように ATDC5 細胞に凝集塊を形成させる PEC は、早期に軟骨細胞への分化を誘導させることのできる優れた基材であることが示された。

展望

今回作成した多糖系 PEC は成分多糖類の構造、調製時の条件などを変化させることにより、スポンジ状の三次元構造体を作成することが可能である。三次元構造を有する優れた細胞培養用基材は創傷被覆材や細胞移植用の担体などに応用が期待される。今後は細胞と基材との相互作用についてさらに詳細に検討を行うとともに、医療への実際の応用を目指した基材の開発を行う計画である。

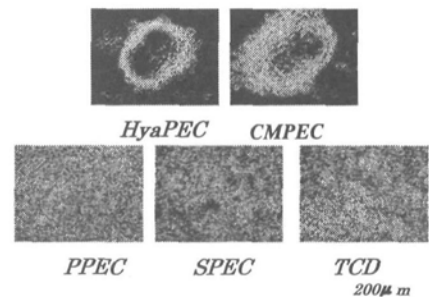


Fig. Alcian blue stain of ATDC5 cells cultured on PEC coating dishes 10 for days.