

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

16年度研究テーマ

15-2-6：幹細胞培養用 scaffold の開発と幹細胞の分化制御に関する研究

ABSTRACT

In this study, we will discuss the differentiation of embryonic stem (ES) cell cultured on various materials. On the polysaccharide immobilized surfaces, ES cell differentiated to various types of tissue cells than that on the tissue culture dish. However, intestine like structures was not observed. On the other hand, on the synthetic type polyelectrolyte complex (PEC), intestine like structures with peristalsis was observed. As a result it was suggested that culture materials effect the differentiation of ES cells.

研究目的

胚性幹細胞(embryonic syem cell, ES 細胞)は、多分化能と自己複製能を有している細胞であり、再生医療への応用が大きく期待されている。既に我々は、高分子電解質錯体(PEC)上で ES 細胞の培養を行うことで、ある程度分化制御が可能であることを明らかにしてきた。例えば、硫酸化キチンとキトサンから形成される PEC(S-PEC)上では神経細胞へ、またカルボキシメチル化キチンとキトサンから形成される PEC(CM-PEC)上では腸管様組織へ分化が促進される傾向にあった。本研究では、ES 細胞の分化挙動に及ぼす、この多糖類系 PEC の効果の解明を目的とし、PEC を様々な条件で単純化した基材上で ES 細胞の培養を行い、その分化挙動について検討を行なった。

一年間の研究内容と成果

カルボキシメチル化キチン固定化基材 (CM-CHN) 上に播種した EBs は、CM-PEC に比べ接着が遅く、培養 5 日目に接着し、ディッシュに伸展を始めた。さらに培養を続けると、拍動する心筋様細胞や様々な細胞が観察されたが、CM-PEC 上で観察されていた腸管の蠕動様の収縮運動部位は確認されなかった。しかし、RT-PCR 法においては、腸管組織の蠕動運動のペースメーカー細胞として知られている Cajal 間質細胞のマーカー c-Kit、及び CD34 の発現が観察されたことから、未熟であるが腸管組織へと分化している可能性が示唆された(Fig.1)。一方で、ポリアクリル酸とキトサンから形成される PEC (PAA-PEC) 上で培養した EBs では、蠕動運動部位が観察されると共に、c-Kit、CD34 の発現も観察されたことから、CM-PEC 上と同様に腸管組織への分化が促進されていると考えられる(Fig.1)。また、異なる分子量のポリアクリル酸からなる PAA-PEC や、PAA-PEC に比べ疎水性表面であるポリメタクリル酸とキトサンから形成される PEC (PMA-PEC) 上で EBs の培養を行ったが、分化挙動に有意差は認められなかった

展望

PEC 上で培養した ES 細胞の分化挙動についてさらに詳細に解析をおこなう。また、超音波等のメカニカルストレスを作用させ ES 細胞の分化挙動について検討を行う。

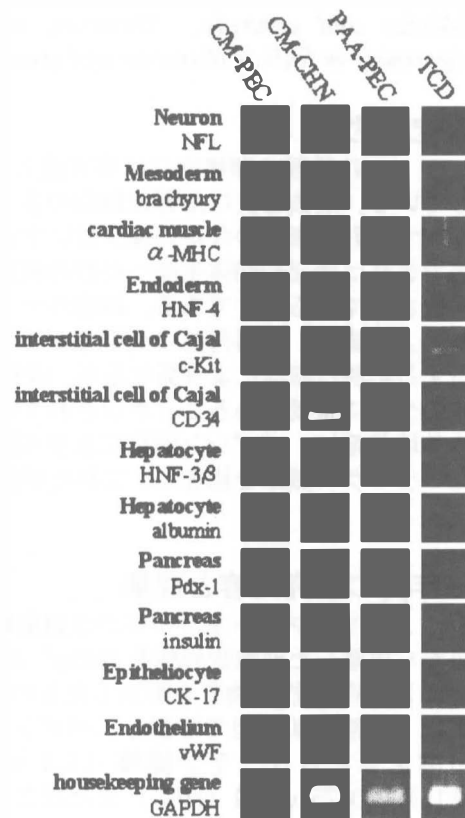


Fig.1 RT-PCR analysis of EBs cultured on the various CM-surfaces at 30 days