

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

15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

Cells in vivo are surrounded by extracellular matrices (ECMs). Polyelectrolyte complex (PEC), compose of polysaccharides, has a similar structure as ECMs. We have already reported that polysaccharide type PEC could control some cell functions. In this study, we will discuss the differentiation of embryonic stem (ES) cell by using synthetic PEC as culture materials. On the synthetic type PEC, ES cell differentiated to various type of tissue cells than that on the tissue culture dish. On the sulfonic type PEC, neuron like cells with long neurite were observed. On the other hand, intestine like structures with peristalsis was observed on carboxy type PEC. As a result it was suggested that functional group of PEC effect the differentiation of ES cells.

研究目的

生体には組織の欠損を伴うような大きな障害を受けた場合、増殖・分化し組織の欠損を修復する幹細胞という細胞が存在する。また、胚由来の多分化能を有する胚性幹(ES)細胞も樹立され、これら幹細胞の再生医療分野への応用が大きく期待されている。現在これらの幹細胞の分化を制御する試みとして、様々なサイトカインなどの液性因子の添加効果が検討されているが、細胞の培養に際して必ず使用する、培養基材に注目して幹細胞との相互作用を検討した例はほとんどない。本研究では、幹細胞の機能制御を行うにあたり培養基材に注目し、幹細胞を効率よく培養すると共に、分化機能を制御することのできる培養基材の開発を行う。このような培養基材を開発することにより再生医療分野での応用が大きく期待される。

一年間の研究内容と成果

硫酸基、カルボキシメチル基、リン酸基を導入したキチンとキトサンから成る PEC(S-PEC、CM-PEC、P-PEC) 上で、ES 細胞の培養を行い、形態観察、RT-PCR 法、免疫染色等の手段を用いて、その挙動について検討を行った。ES 細胞から EBs を形成させた後に、各 PEC 上で培養を行うと、いずれの PEC 上でも接着、増殖、分化が観察された。特に、S-PEC 上で培養を行うと、突起を伸展させた神経様細胞が観察された。また、P-PEC 上で培養を行うと、再現性良く、蠕動様の収縮運動部位が観察された。RT-PCR 法によって、蠕動運動のペースメーカー細胞として知られている、Cajal 間質細胞のマーカである c-Kit 及び CD34 の mRNA の発現が認められ、さらに免疫染色においても、平滑筋様細胞の周辺に、c-Kit 陽性細胞が観察された。従って、蠕動様の収縮運動部位は、腸管様組織である可能性が示唆された。このような収縮運動は、S-PEC、CM-PEC 上で培養を行った EBs では、P-PEC 上よりも遅れて観察され、TCD ではこの収縮運動は観察されなかった。このように、各 PEC 上で EBs の培養を行うと、PEC の種類によって、その分化挙動が異なる傾向にあることが示された。

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するとともに、PEC の成分ポリマー、組成などを変化させ分化挙動の変化について検討を行う。

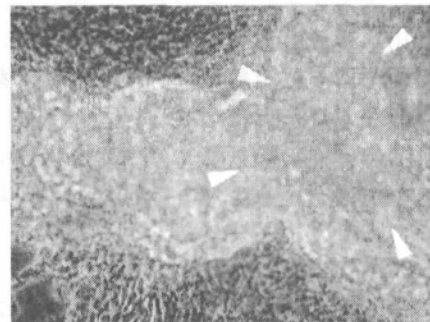


図1 シャーレ上で蠕動様運動を行う ES 細胞。

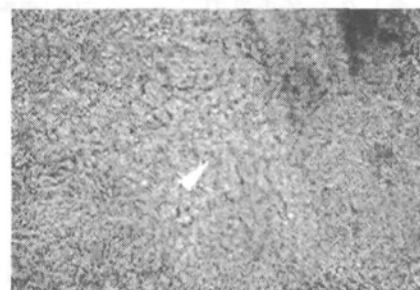


図2 シャーレ上で拍動を行う ES 細胞。