

## C313

## ストローマ細胞のポリウレタン発泡体三次元培養による造血支持環境構築の試み

(九大院工) ○ (学) 小磯瑛一・(学) 城崎格・(正) 水本博・(正) 梶原稔尚\*

### 1. 緒言

近年、献血による血液供給を補助、代替する方法の1つとしてあらゆる血液細胞に分化する造血幹細胞を用いた生体外での血液産生が注目されている。血液細胞の産生法として、造血を支持するストローマ細胞を単層で培養し、その上で造血幹細胞を培養する方法が挙げられる。しかしこの培養法では、大量の血液産生が困難である。そこで、本研究では高い比表面積を持つポリウレタン発泡体(PUF)に着目した。PUF孔内の微小空間内においてストローマ細胞を培養することにより、単層培養と比較して飛躍的な造血支持床の提供が期待できる。今回、特性の異なる2種類のPUFを用いてストローマ細胞の形態、増殖について評価した。

### 2. 実験方法

本研究では表面特性の異なる2種類のPUF (R1-PUF:接触角  $85.2 \pm 2.3^\circ$ 、W1-PUF:接触角  $47.8 \pm 4.5^\circ$ ) を培養担体として使用した。また、ストローマ細胞のモデルとして造血幹細胞の分化支持能を有するOP9細胞(RCB1124)を使用した。直径22mm、厚さ1mmのPUFプレートに  $3.65 \times 10^4$  cellsのOP9細胞を播種後、培養を7日行い、細胞形態、細胞数を評価した。

次にマウス骨髄から磁気標識分離法でマウス造血幹細胞を含む分画としてSca-1<sup>+</sup>細胞を分離した。OP9細胞を培養しているPUFプレートに対して  $2.0 \times 10^5$  cellsのSca-1<sup>+</sup>細胞を播種後、培養を7日行い、細胞増殖能、血液細胞への分化能評価を行った。

### 3. 結果及び考察

PUF孔内でのOP9細胞の形態をFig. 1に示す。Fig. 1よりR1-PUFではOP9細胞が伸展した形態であるのに対し、W1-PUFでは凝集塊を形成することが示された。これはR1-PUFがW1-PUFより疎水的な表面を有し、OP9細胞が接着しやすいためと考えられる。PUF孔内でのOP9細胞の細胞数変化をFig. 2に示す。この結果、R1-PUFではOP9細胞が増殖しているのに対し、W1-PUFでは細胞増殖が認められなかった。以上の結果、R1-PUFがOP9細胞の培養に適していることが示された。

次にR1-PUFにOP9細胞を各々  $3.65 \times 10^4$  cells/PUF、  $1.83 \times 10^5$  cells/PUF、  $3.65 \times 10^5$  cells/PUFの条件で播種を行い、細胞形態、細胞増殖に対する影響を検討した。播種細胞数に対する細胞数変化をFig. 3に示す。Fig. 3より、播種細胞数に依存してOP9細胞が増加することが示された。しかし、  $3.65 \times 10^5$  cells/PUFでは凝

集塊の形成が観察された。以上の結果、  $1.83 \times 10^5$  cells/PUFが適当な播種細胞数であることが示された。

最後にR1-PUFを用いてOP9細胞上でSca-1<sup>+</sup>細胞の培養を行った。PUF孔内においてSca-1<sup>+</sup>細胞はOP9細胞上に付着し、培養7日間で2.7倍になった。また血液細胞への分化能を評価した結果、血液細胞へ分化していることが確認できた。現在、造血環境構築に適したOP9細胞の培養条件について検討中である。

### 4. 結言

OP9細胞とR1-PUFを用いて構築した造血環境にSca-1<sup>+</sup>細胞を播種することで、血液細胞への分化傾向が示された。

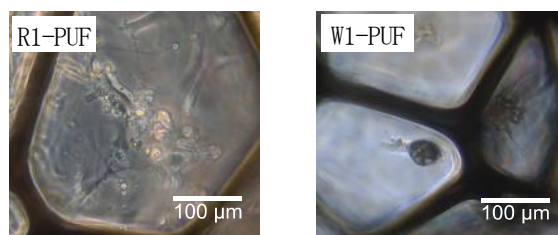


Fig. 1 OP9細胞の形態観察(培養14日目)

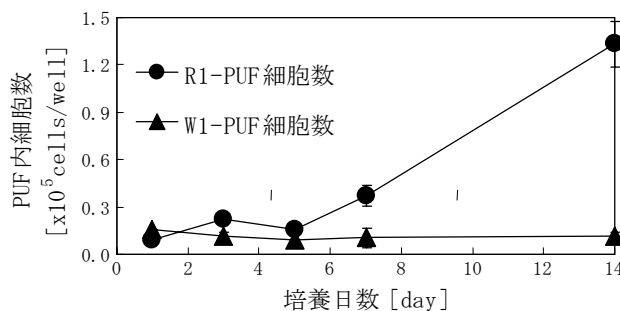


Fig. 2 異なるPUF材質での細胞数評価

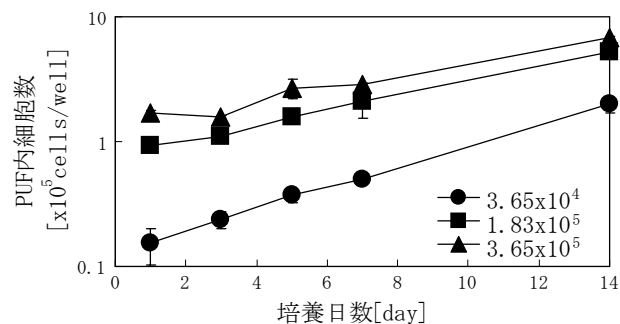


Fig. 3 異なる播種条件での細胞数評価

\*Tel: 092-802-2746, Fax: 092-802-2796  
e-mail: kajiwara@chem-eng.kyushu-u.ac.jp