

C314

幹細胞から心筋細胞分化誘導可能なグルコース提示型培養面の開発

(阪大院・基工¹, 阪大院・工²) 金 美海¹, 圓山 尚¹, (正)紀ノ岡正博², ○(正)田谷正仁^{1*}

【緒言】

幹細胞は有用な細胞源として再生医療への応用が期待されている。従来の分化誘導の多くは、液性因子の添加によるものであるが、新たな手法として固相培養面からの刺激による分化誘導が注目されている¹⁾。我々は、D-グルコースを培養面に提示することで、細胞膜上のグルコーストランスポータとの親和性により、細胞形態制御が可能であることを示した²⁾。本研究では、細胞足場タンパクの制御によるヒト間葉系幹細胞から心筋細胞への分化誘導を可能とする培養面の開発を目指す。

【実験】

細胞としてヒト骨髄由来間葉系幹細胞 (hMSC) を用い、D-グルコース提示型デンドリマー培養面 (世代数 5, G5 と略称) にて、10%FBS 含有 DMEM を用い培養を行った (Fig.1 A)。さらに、対照として、浮遊凝集培養法により、同一の培地に浮遊した細胞を 96 ウェル U 字底プレート (住友ベークライト社製) に播種し細胞集塊を形成させた (Fig.1 B)。これらの細胞集塊について、培養 7 日目に蛍光染色によって、Table 1 のマーカーにより分化状態を評価した。

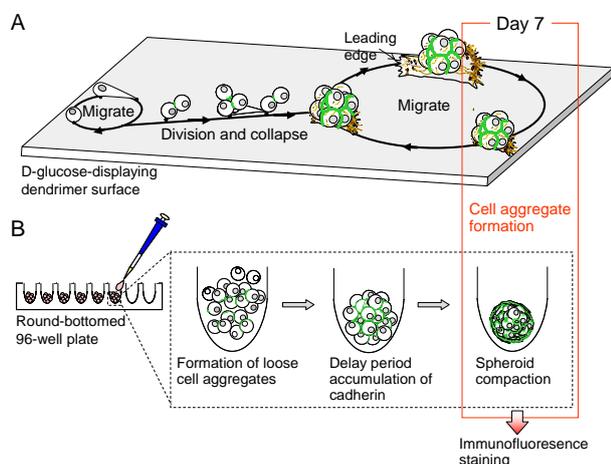


Fig. 1 D-グルコース提示面 (G5) 上での培養 (A) と浮遊凝集培養 (B) による細胞集塊形成

Table 1 蛍光染色法による筋肉系細胞の分化マーカー

筋肉系の分類	筋肉系細胞分化マーカー
骨格筋細胞	Desmin fast skeletal myosin heavy chain (MHC, Fast Skeletal)
心筋細胞	Desmin cardiac troponin T (cTnT)

【結果および考察】

G5 面にて、hMSC を培養したところ、丸い形態を示す細胞の頻度が高くなり、培養 7 日目では球状の集塊を形成することが分かった。G5 面上での細胞集塊と浮遊凝集培養法により形成された細胞集塊との分化状態を比較検討したところ、浮遊凝集培養法により形成された集塊は hMSC 表面マーカーである CD105 陽性であるのに対し (data not shown), 各筋系細胞マーカーでは陰性であることが確認された (Fig.2 D-F)。一方、G5 面上で形成された細胞集塊はすべて筋系細胞に特異的な desmin 陽性を示し、部分的ではあるが骨格筋細胞に特異的な MHC, Fast Skeletal が陽性であることが確認できた (Fig.2 A,B)。さらに、細胞集塊内では、心筋細胞に特異的なマーカー cTnT 陽性の細胞が存在していることが確認され (Fig.2 C)、本培養面が間葉系幹細胞から筋系細胞への分化に有効な内源性シグナリングを誘発できる培養面であることが示された。

【参考文献】

- 1) M.P. Lutolf and J.A. Hubbell: Nature Biotechnology, **23**, 47-55 (2005).
- 2) M.-H. Kim *et al.*: Biotechnology Advances, **28**, 7-16 (2010).

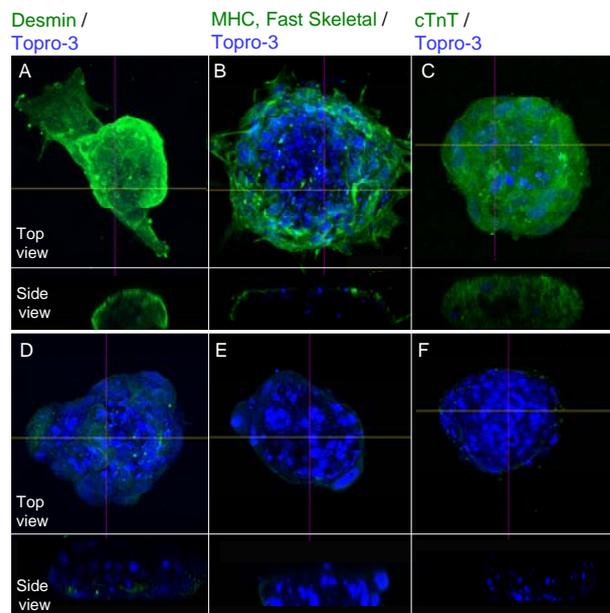


Fig. 2 蛍光染色法による分化能評価 (培養 7 日目)。A, B, C ; D-グルコース提示面 (G5), D, E, F ; 浮遊凝集培養法

*TEL:06-6850-6251, FAX:06-6850-6254
e-mail: taya@cheng.es.osaka-u.ac.jp