

B216

機能性磁性ナノ粒子を用いた筋組織再生技術による バイオアクチュエーターの開発

(九大院工・化工) ○ (正) 井藤 彰, (九大院シス生) (学) 山本泰徳, (九大院工・化工) (正) 河邊佳典, (豊田中研) 藤田英明, (正) 清水一憲, (正) 長森英二, (九大院工・化工, 九大院シス生) (正) 上平正道*

1. 緒言

培養した筋芽細胞を *in vitro* で再構築した筋組織は、再生医療分野あるいは電気刺激に応答して駆動する動力としてのアクチュエーターへの応用が可能と考えられる。現行の筋組織作製法として人工足場材料を用いるアプローチがあるが、生体内の筋組織と同様な、細胞が高密度に存在し、さらに特定方向へ配向した組織を作製することは困難である。そこで本研究では、足場材料を使わない新しい三次元組織構築手法として、機能性磁性ナノ粒子で標識した筋芽細胞を磁力で集積することで、筋組織を *in vitro* で構築する技術の開発を行い、機能を評価した。

2. 実験方法

超低接着性培養皿の中心にシリコン栓を設置し、培養皿を磁石上に設置した。正電荷脂質包埋型磁性ナノ粒子 (Magnetite Cationic Liposome, MCL) を作製し、MCL (100 pg/cell) をマウス C2C12 筋芽細胞に添加することで、C2C12 細胞を磁気標識した。磁気標識した C2C12 細胞を回収し、培養皿とシリコン栓の隙間に播種し、細胞を磁石で引きつけながら培養を行った。2 日後に磁石を取り除き、作製した環状組織にコラーゲンとマトリグルの混合ゲルを塗布し、4 時間後に環状組織を取り外した。取り外した環状組織を、35 mm dish に設置したシリコンラバーの上に移し、虫ピンを用いてシリコンラバー上に留めた。その後、分化誘導培地にて、分化誘導培養を行った。分化誘導培地には、Ultroser G (血清代替物、PALL Life Sciences) を含む分化誘導培地で 6 日間培養を行った。その後、組織の筋分化を調べるために、HE (ヘマトキシリン&エオジン) 染色による組織断面の観察と、蛍光免疫染色による Myogenin タンパク質発現の確認を行った。

分化誘導 17 日後の環状組織を歪み計に設置して、電気刺激によって収縮する際の力を測定した。印加電圧 15V で、10 ms の電気パルスを与えた。

3. 実験結果及び考察

磁気標識した細胞は培養皿底面に磁力で引き寄せられて集積し、さらに、培養皿とシリコン栓の隙間に集積した細胞組織は中心方向に収縮し、中央のシリコン栓に絡みつくことで、環状の組織を形成した(図 1A)。作製した環状組織の断面を観察したところ、円周方向

へ細胞が配向していた。これは、作製した筋組織がシリコン栓に収縮を阻まれ、組織内に張力が発生したためであると考えられる。分化誘導培地で 6 日間培養を行った組織の断面を HE 染色して観察した結果、多核化した細胞を確認することができた。組織の筋分化誘導を確認するために、分化誘導マーカーである Myogenin 発現を蛍光免疫染色で観察したところ、分化誘導後の環状組織内に Myogenin タンパク質の発現を確認することができた。これらの結果から、作製した三次元筋組織を筋分化誘導することに成功した。

このように、機能性磁性ナノ粒子と磁石を用いることで、細胞を一方向に配向させた繊維状の三次元筋組織を作製できることが示された。次に、作製した筋組織が電気刺激に応答して収縮するかどうかを調べた。15V、10 ms の電気パルスを印加した結果、最大 32.3 μN の収縮応答性を示した。

これらの結果から、磁力を用いて作製した筋組織は、再生医療やバイオアクチュエーターへ応用可能であると考えられる。

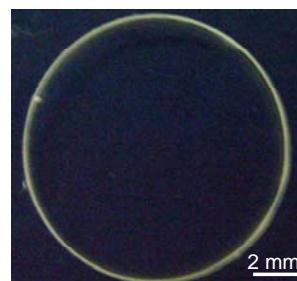


図 1 C2C12 細胞と MCL で作製した三次元筋組織の外観

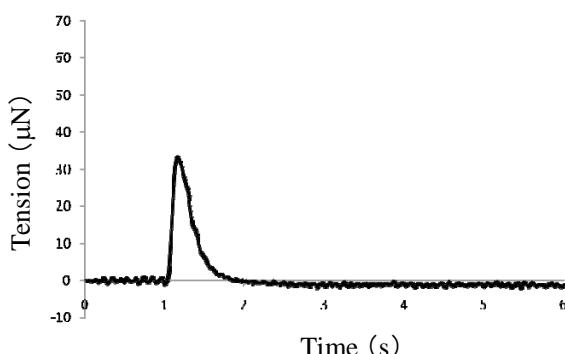


図 2 電気パルスによる収縮応答

*Tel: 092-802-2743, Fax: 092-802-2793.

e-mail: kamihira@chem-eng.kyushu-u.ac.jp