

P-37

2504

骨髄間葉系幹細胞集塊 Clumps of mesenchymal stem cells/extracellular matrix complex を利用した新規硬組織再生療法開発

加治屋 幹人

キーワード：間葉系幹細胞，細胞外マトリックス，幹細胞集塊

【目的】骨髄間葉系幹細胞（MSCs）は多分化能を有し，組織再生治療への応用が期待されている。細胞移植のために人工足場材料が利用されているが，生体適合性の問題や，移植細胞数およびその細胞機能を制約するという問題点がある。そこで本研究では，自己生産された extracellular matrix（ECM）を利用することによって間葉系幹細胞集塊 Clumps of MSCs/ECM complex（C-MSC）を樹立し，人工足場材料を必要としない組織再生療法を開発することを目的とした。

【材料と方法】ラット大腿骨から分離した MSCs を，24well プレートに播種し，50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のアスコルビン酸含有の増殖培地（DMEM+10% FBS）にて7日間培養した。これをマイクロピペットチップにてこそぎ，ECM と MSC から構成される細胞シートの状態で剥離させ，この浮遊した MSCs/ECM 複合体をさらに増殖培地にて培養することによって，細胞集塊 C-MSC を得た。蛍光免疫染色によって C-MSC と ECM を観察した。また，C-MSC を骨分化誘導培地にて培養し OPN mRNA 発現，カルシウム濃度を測定した。C-MSC をラット頭蓋冠骨欠損モデルに移植し，マイクロCT スキャンおよび組織学的解析によって骨再生効果を観察した。

【結果と考察】C-MSC が Type I Collagen によって形作られた細胞集塊であることが蛍光免疫染色によって確認された。骨分化培地で培養された C-MSC の OPN mRNA 発現およびカルシウム濃度が時間依存的に上昇した。C-MSC は人工の足場材料無しでラット頭蓋冠骨欠損に移植でき，骨分化培地で培養された C-MSC が効率的に骨再生を促進することが観察された。

【結論】細胞集塊 C-MSC の移植が，足場材料を必要としない新規骨再生療法の開発に貢献する可能性が示された。