

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		時空間的な培養条件の検討による骨髄由来間葉系幹細胞の樹立効率改善			
研究テーマ (欧文) AZ		Efficiency improvement for establishment of bone-marrow-derived mesenchymal stem cells by controlling spatio-temporal culture conditions			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓) コジマ	名) ノブヒコ	研究期間 B	2016 ~ 2017 年
	漢字 CB	小島	伸彦	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Kojima	Nobuhiko	研究機関名	横浜市立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科・准教授			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>本研究では、骨髄由来間葉系幹細胞を増幅・樹立する過程の初期に三次元培養を導入することによって、増幅・樹立効率を改善することを目的とした。</p> <p>使用する実験動物種の検討 当初マウス骨髄細胞を用いる計画であったが、安定的に樹立作業が行えることや、個体あたり得られる骨髄細胞数がより多いことからラット骨髄細胞を使用した。</p> <p>間葉系幹細胞の接着効率と増殖速度 骨髄組織を分散・溶血することで得られた有核骨髄細胞を、500,000 個ずつメチルセルロース培地の中で凝集させて 24 時間三次元培養を行なった。その後シングルセルへと再度分散させてシャーレに播種し、紡錘状の間葉系細胞の数を経時的に計測した。三次元培養を介さずに直接シャーレに播種した通常法に比べ、3、7、14、21 日目において、それぞれおよそ 4.7 倍、4.7 倍、9.9 倍、4.8 倍の間葉系細胞が接着していた。この結果からは、凝集を経て播種する我々の方法では、3 日目の時点で接着細胞数が 5 倍程度多く、さらに通常法よりも早く対数増殖期に入ることがわかった。</p> <p>有効間葉系幹細胞数 細胞数変化から指数関数で近似した増殖曲線を作成し、当初骨髄細胞内に存在していた接着・培養可能な間葉系幹細胞(これを有効間葉系幹細胞と定義する)の推定を試みたところ、通常法では 0.18%、三次元培養を介した方法では 0.040%となった。</p> <p>考察 骨髄細胞中の間葉系幹細胞数はもちろん不変であるが、有効間葉系幹細胞は培養条件によって変化すること、また、有効間葉系幹細胞を増加できるような培養条件では、増殖速度も高くなる可能性が示された。三次元培養を介することで、通常方法で 3 週間かかる細胞数を 3 日間の期間で準備でき、治療までの時間短縮やコスト削減に繋がる。三次元培養を行う期間や ECM の効果は継続して検討中であり、ヒト細胞の利用については倫理委員会での承認を待っている。</p> <p>(現在特許出願準備中であり、論文投稿や学会発表などは特許出願を終えてから行う予定である)</p>					
キーワード FA	間葉系幹細胞	骨髄	三次元培養	樹立効率	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード* TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 <sup>EZ</sup>

In this study, we aimed to improve the efficiency of “mesenchymal stem cell establishment” by utilizing a three dimensional (3D) culture system.

At first, we decided to use rats in our experiments because the number of the bone marrow cells obtained from rats is higher than that from mice.

We made “multicellular spheroid” by injecting of 1 μl of fresh culture medium suspending 500,000 bone marrow cells into the methylcellulose medium. After culturing of the spheroids for 24 hours, we isolated the spheroids, dissociated and suspended into a fresh medium. We seeded these cells on a culture dish, and observed and counted the adhered spindle-shaped cells. The number of spindle-shaped cells seeded after 24 hours 3D culture was about 5 times higher than normally seeded bone marrow cells.

We estimated the number of originally contained adhesive mesenchymal stem cells based on the growth curves. The numbers were different between each condition, indicating that the efficiency of mesenchymal stem cell establishment is not stable but variable depending the culture conditions.

These findings might be important to apply mesenchymal stem cells to clinical treatment.