

遺伝子導入筋芽細胞を用いた高機能人工筋組織作製法の開発

佐藤, 暢哲

<https://hdl.handle.net/2324/1441206>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（工学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）



氏 名 : 佐藤 暢哲

論文題名 : 遺伝子導入筋芽細胞を用いた高機能人工筋組織作製法の開発

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

筋肉は再生医療の研究対象の1つであり、人工筋組織に関する研究は世界中で行われている。また筋肉の柔軟性、エネルギー変換効率の良さから、医療分野だけでなく、アクチュエータや物を動かすための動力源としての応用も考えられるため、人工筋組織作製に関する研究は、応用の多様性から大きな意義を有するものと考えられる。上述のような分野で人工筋組織を利用するためには、人工筋組織が生体筋肉と同様な機能を持っていることが望まれる。当研究室では、生体筋肉が持つ特徴を模倣するために **Magnetic force-based tissue engineering (Mag-TE)** 法を利用して人工筋組織の作製を行ってきた。Mag-TE 法を利用して作製した人工筋組織は、細胞が高密度に存在し、一方向に配向した筋管を誘導することができ、電気刺激に応答した収縮を示したことから、生体筋肉と同様の機能性を持っていることが明らかとなった。しかしながらこの人工筋組織が発生した収縮力は、生体筋肉が発生する力に比べて非常に小さいものであった。本研究では、人工筋組織が発生する力を生体筋肉に近づけることを目標とし、人工筋組織の高機能化に関する研究を行うことにした。

第1章では、本研究を行う目的および解決すべき問題点を挙げた。さらに法研究を遂行するにあたっての方針、戦略について述べた。

第2章では、本研究に関連する分野の既往の研究について述べた。既往の研究例から、実用的な人工筋組織を構築するには足場材料を極力使用しないこと、生体筋肉に近づけるためには人工筋組織の高機能化が求められるが、それには筋芽細胞への遺伝子導入が有用である可能性があることを示した。

第3章では Tet-On システムを組み込んだレトロウイルスベクターを使用して、IGF-I の誘導発現が可能な C2C12 細胞を作製した。IGF-I の筋芽細胞への効果を調べたところ、IGF-I の過剰発現により細胞増殖が促進され、分化誘導後の筋管が肥大した。IGF-I の過剰発現人工筋組織を作製したところ、人工筋組織の収縮特性が向上した。これは IGF-I の過剰発現により人工筋組織内部の筋管が筋肥大を起こし、筋成熟が促進された結果であることが示唆された。生体内の筋肉の収縮特性と比較すると IGF-I 遺伝子導入人工筋組織の収縮特性は依然として非常に低いレベルではあるが、本章の結果より筋芽細胞への遺伝子導入は人工筋組織の高機能化に有用な手段であることを明らかにした。

第4章では第3章と同様に Tet-On システムを組み込んだレトロウイルスベクターを使用することで Bcl-2 の誘導発現が可能な C2C12 細胞を作製した。Bcl-2 の過剰発現は筋分化に影響を与えることはなかった。低酸素条件、血清飢餓条件下で Bcl-2 を過剰発現した C2C12 細胞を培養したところ、ストレス耐性効果を有していることが示唆された。Bcl-2 遺伝子を誘導発現するように設計した C2C12 細胞を用いて人工筋組織を作製し、Bcl-2 の過剰発現をさせたところ、人工筋組織の収縮

特性が向上した。これは **Bcl-2** の過剰発現により人工筋組織内の筋管の筋分化や筋成熟の促進が起きたわけではなく、人工筋組織内部の細胞死が抑えられ、その結果頑強な組織の作製ができたためであることが示唆された。生体内の筋肉の収縮特性と比較すると **Bcl-2** 遺伝子導入人工筋組織の収縮特性は **IGF-I** 遺伝子導入人工筋組織と同様に低いレベルではあるが、3 章の結果および本章の結果より筋芽細胞への遺伝子導入は人工筋組織の高機能化に有用な手段であることが示唆された。

第 5 章では第 3 章、第 4 章の結果から **IGF-I** と **Bcl-2** の相乗効果が得られる可能性があると考え、**IGF-I** 遺伝子と **Bcl-2** 遺伝子の共導入筋芽細胞を作製した。また、筋芽細胞への共遺伝子導入だけでは人工筋組織の高機能化が不十分であることが考えられるので、電気刺激培養と組み合わせたところ、単独の遺伝子を導入した人工筋組織よりもさらに大きな収縮力を得ることに成功した。共遺伝子導入と電気刺激培養を行った人工筋組織内部ではより多核化した筋管が多く見られた。**IGF-I** 遺伝子と **Bcl-2** 遺伝子の共導入により、人工筋組織内の細胞が生存してより高密度に存在し、分化した筋管が成熟した可能性が考えられる。本章の結果から筋芽細胞への共遺伝子導入と電気刺激培養の組み合わせは人工筋組織の更なる高機能化に有用な手段であることが示唆された。

第 6 章では、本論文のまとめと今後の展望を述べた。