

# Myoblast Alignment and Fusion on Glyco-Biointerfaces with Micropatterned Geometries

プーサラ, ポーンティダ

<https://doi.org/10.15017/1785445>

---

出版情報：九州大学, 2016, 博士（農学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：全文ファイル公表済



氏 名 : ポンティダ プーサラ

論文題名 : Myoblast Alignment and Fusion on Glyco-Biointerfaces with Micropatterned Geometries  
(マイクロパターン化糖鎖バイオ界面における筋芽細胞の配列と融合)

区 分 : 甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

サステイナブル資源からの先端マテリアル創出において、近年、天然糖鎖の持つ生理機能に注目が集まっている。特に、再生医療分野で重要な細胞培養基板のマトリックスとして、糖鎖膜の機能設計への期待が高まっている。本研究では、キトオリゴ糖の非還元末端基の界面集積化とマイクロパターン化により、マウス筋芽細胞の配列によるモルフォロジー制御と、分化誘導血清を用いない細胞融合および組織形成を試みた。

まず、天然セルロース結晶薄膜の合成技術の応用により、hexa-*N*-acetylchitohexaose (GlcNAc6) の還元末端基特異的 S 誘導体化と金基板への自己組織化による造膜に成功した。得られた自己組織化糖鎖膜は、0.68 chain/nm<sup>2</sup> の高密度で非還元末端基を外側に向けてクラスター化した薄膜であった。GlcNAc を基質認識するマウス筋芽細胞 C2C12 を播種・培養したところ、非常に良好な細胞接着性が見られた。さらに、金基板を 200, 500, 1000 μm 幅のストリップ状にマイクロパターン化した後に糖鎖を固定することで、糖鎖レールに沿った細胞配列が見られ、幅が細いほど細胞接着性と増殖性が向上し、筋管細胞様の組織形成が示唆された。この現象は、ポリスチレン製の培養基材や糖鎖未固定の金基板では観察されず、C2C12 細胞表面の GlcNAc レセプターと糖鎖基板との相互作用が、細胞内シグナル伝達系に直接作用し、*in vitro* での細胞培養挙動に変化をもたらしたと考えられる。

次に、糖鎖集積膜のマイクロパターンが細胞培養特性に与える影響について、筋形成時の遺伝子発現挙動を詳細に解析した。Myosin heavy chain (MyHC) アイソフォームの遺伝子発現に着目したところ、培養 3~5 日後に *MyHC-2a* の発現量依存的な細胞融合の開始が認められ、特に 200 μm 幅の糖鎖レールで顕著に表れた。培養 7 日後には筋芽細胞同士の融合が起こり、筋管細胞への分化が見られた。この現象は、分化誘導血清を含まない培養条件においても観察されたことから、GlcNAc6 固定化バイオ界面が培養細胞の細胞融合に直接働きかけるユニークな促進効果が明らかとなった。

さらに、マイクロパターン化糖鎖バイオ界面での筋形成関連タンパク質と細胞接着性タンパク質のアクチンフィラメントの発現挙動を検証した。GlcNAc6 固定パターン上では、筋組織特異的タンパク質の *MyoD* が培養初期に活性化し、増殖後は低下した。それと同時に *Myogenin* の発現量が増大し、アクチンフィラメントの明瞭な配列が起こった。その際、グルコースの取り込みに関与する glucose transporter type 4 (GLUT4) の mRNA の発現増幅も見られたことから、おそらく筋収縮が活発になっていると推測された。この結果から、分化誘導血清を含まない培養条件でも、GlcNAc6 固定化バイオ界面では、筋芽細胞の筋組織への分化誘導と筋管細胞の成熟が起こっていると推察される。

以上より、生理活性オリゴ糖鎖膜が、動物細胞の培養において興味深い特性を有することが明らかとなった。基板のマイクロパターン化後に糖鎖を固定する簡単な手法で、筋芽細胞の配列誘導と筋機能の部分的な発現に成功した。さらに、血清を用いない分化誘導は、現在の再生医療の課題である他生物種由来の生体物質に起因する免疫拒絶を根本的に解決し得る。天然糖鎖の新機能開拓と生物産業創成に向けて、糖鎖集積バイオ界面のさらなる機能向上と実用化に期待が持たれる。