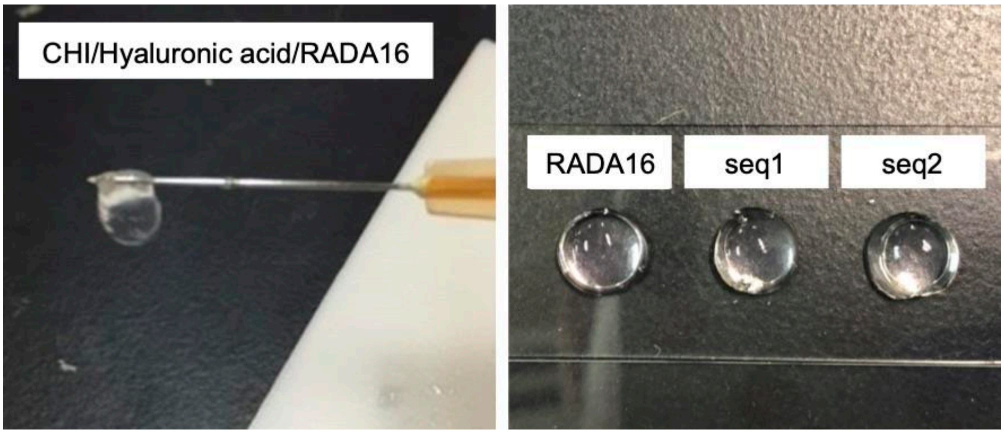
188　新規高分子網目設計に基づく幹細胞分化誘導足場の開発	飯島　一智

【目的】再生医療の実現のためには幹細胞を高効率かつ特異的に特定の組織に分化誘導する技術が不可欠であり、細胞足場材料による分化制御法が注目を集めている。細胞足場材料が幹細胞の分化特性に影響を与える主な因子として、1．弾性率、2．細胞周囲微小環境、3．担持生理活性分子、が挙げられる。しかし弾性率と細胞周囲環境は相関しており、単一成分からなるゲルではそれぞれを最適化することは困難であった。本研究では、弾性率と細胞周辺環境をそれぞれ制御可能な相互侵入高分子網目ゲルシステムを用い、種々のゲルを作製して間葉系幹細胞の分化に与える影響を明らかにすることで、分化を制御可能な足場材料の開発を目的とした。具体的には、1．弾性率を調節可能で生分解性を有するグリコサミノグリカン／キトサンを力学ネットワークとしたゲルの作製、2．多様な自己会合性ペプチドからなるゲルを作製と間葉系幹細胞の分化に与える影響の解明、を行った。

【方法】コンドロイチン硫酸 C およびヒアルロン酸の過ヨウ素酸酸化によりグリコサミノグリカンジアルデヒドを得た。自己会合性ペプチドとしてはすでに自己会合性を示すことが報告されている seq1 ペプチドおよび seq2 ペプチドを用いた。ゲルは、キトサン溶液へ NHS 化ポリエチレングリコールまたはグリコサミノグリカンジアルデヒド溶液、自己会合性ペプチド溶液を順に加え、混合することで作製した。ゲル内でヒト骨髄由来間葉系幹細胞の骨分化および軟骨分化を誘導し、各種マーカー遺伝子の発現より分化特性を評価した。

【結果】グリコサミノグリカンジアルデヒド、キトサン、RADA16 ペプチドより透明のハイドロゲルが形成され、力学強度をもたらす化学架橋ネットワークとしてキトサン／グリコサミノグリカンネットワークも利用可能であることが示された。過ヨウ素酸量により酸化率が制御可能であることも確認し、弾性率を制御可能なゲルの構築に道筋と立てた。一方、seq1 ペプチドおよび seq2 ペプチドを用いた場合も RADA16 と同様のゲル化挙動がみられた。次に、自己会合性ペプチドがヒト骨髄由来間葉系幹細胞の分化挙動に与える影響を調べた。軟骨分化において、seq2 を用いたゲルでは RADA16 を用いたゲルと比較して関節軟骨を構成する硝子軟骨のマーカー遺伝子 *COL2A1* の発現が 30 倍ほど高く、軟骨再生において有用なゲルとなる可能性が示唆された。以上より、相互侵入高分子網目ゲルを構成する自己会合性ペプチドの種類により間葉系幹細胞の軟骨分化挙動が大きく変化することが明らかになった。間葉系幹細胞の分化を制御可能な本ゲルシステムを利用することで、MSC を用いた各種組織への分化誘導技術の確立が期待される。

本研究において作製したゲルの巨視像