

主論文の要約

Profiling of extracellular matrix and cadherin family gene expression in mouse feeder layer cells: Type VI collagen is a candidate molecule inducing the colony formation of epithelial cells

(マウスフィーダーレイヤー細胞における細胞外マトリックスおよびカドヘリンファミリー遺伝子の発現プロファイリング: VI型コラーゲンは上皮細胞のコロニー形成を誘導する候補分子の一つである)

東京女子医科大学 先端生命医科学研究所

(指導: 岡野光夫 教授)

高木 亮

Tissue Engineering Part A

Volume 18, Numbers 23 and 24, p 2539-48, 2012

【目的】 マウス 3T3 フィーダーレイヤー法は、ヒト表皮角化細胞などの重層扁平上皮細胞の継代培養を可能にした培養法で、培養されたヒト表皮角化細胞は増殖後、分化・重層化し、組織様の構造を再構築する。この培養法で作製した培養上皮は、1980年より皮膚、口腔粘膜、角膜などの再生医療に供されてきた。しかしながら、培養重層扁平上皮細胞とフィーダーレイヤーの間の相互作用の詳細な分子機構については未だ解明されていない。本研究では、フィーダーレイヤーが産生し重層扁平上皮細胞の増殖・分化を誘導する生理活性因子の探索を目的としている。具体的には、重層扁平上皮細胞のコロニー形成能を指標と

して、フィーダーレイヤー活性の高い線維芽細胞株のスクリーニングをおこない、特異的に高レベルで発現する遺伝子の探索をおこなった。

【方法】 3T3 細胞を含む、6 種類のマウス線維芽細胞株をフィーダーレイヤーとしてウサギ口腔粘膜上皮細胞を用いてコロニー形成試験をおこない、コロニー形成能に有意な差のある細胞株間で遺伝子発現比較解析をおこなった。培養実験から液性因子よりも細胞接着因子や細胞外マトリックスが重要であることが示唆されたため、細胞接着因子遺伝子 (32 種) や細胞外マトリックス関連遺伝子 (29 種) を対象とした。

【結果】 コロニー形成試験の結果、C3H/10T1/2 が有意に高いコロニー形成能を示した。RT-PCR による遺伝子発現解析をおこなったところ、VI 型コラーゲン遺伝子の発現が C3H/10T1/2 において有意に高かった。生体組織から単離した VI 型コラーゲンをコートした培養皿を用いてコロニー形成試験および細胞接着試験をおこなったところ、コーティング密度に依存してウサギ口腔粘膜上皮細胞のコロニー形成能と細胞接着能が上昇した。

【考察】 C3H/10T1/2 による重層扁平上皮細胞のコロニー形成の誘導に VI 型コラーゲンが関与している可能性が示唆された。また、VI 型コラーゲンは上皮細胞の細胞接着を誘導し、コロニー形成能を上昇させることが明らかとなった。

【結論】 本研究において、VI 型コラーゲンが重層扁平上皮細胞のコロニー形成を促すことが示された。このことから、VI 型コラーゲンは再生医療を目的とした重層扁平上皮細胞培養に有用な生体材料であることが示唆された。