

プロテオグリカン分解物がMSCの軟骨分化に及ぼす影響

共生基盤学攻 食品安全・機能性開発学講座 食品素材開発学 山本 祐弥

1. 結論

プロテオグリカン(PG)とは、コアタンパク質にグリコサミノグリカン鎖(GAG鎖)が共有結合した糖タンパク質の総称であり、コラーゲンやエラスチンと共に細胞外マトリックスの主要成分である。PGは軟骨、皮膚、後産に多く含まれており、高い保水性を持つことが特徴である。PGの酵素分解物が、培養線維芽細胞の増殖および細胞外マトリックス産生を促進することは既に報告しているが(北海道畜産草地学会報 2 : 63-71, 2014), 同じ間葉系の細胞でも未分化である間葉系幹細胞(MSC)に及ぼす影響については報告がされていない。本研究では、由来組織が異なるPGを用いて、分解物がMSCの分化にも影響を及ぼすのかを検討した。

2. 方法

ウシ肋軟骨およびウシ後産より抽出したPGを酵素処理によって切断GAG鎖とコアタンパク質ペプチド(CPPs)に分解した。これらの分解物をMSCの単独培養区、軟骨細胞との共培養区の培養培地に液性因子として添加し、軟骨分化の指標となる軟骨コラーゲン(II, IX, XI型)の遺伝子発現レベルを測定した。また、軟骨コラーゲンに対する抗血清で免疫染色した細胞層、GAG鎖を強染するトルイジンブルー(T.B.)染色した細胞層をそれぞれ蛍光顕微鏡、光学顕微鏡を用いて観察した。

3. 結果と考察

MSCの単独培養区では、後産由来のCPPsによって軟骨コラーゲンの遺伝子発現が促進された($P < 0.05$)。共培養区では軟骨由来の切断GAG鎖、CPPsによって軟骨コラーゲンの遺伝子発現が促進された($P < 0.05$)。T.B.染色において、単独培養区では、後産CPPs、軟骨切断GAG鎖、軟骨両者混合によって細胞層が強染され、共培養区では、全ての試験区で細胞層が強染された。免疫染色において、単独培養区では後産CPPs、軟骨切断GAG鎖、軟骨両者混合で軟骨コラーゲンに対する陽性反応が確認され、共培養区では全ての試験区で軟骨コラーゲンに対する陽性反応が確認された。単独培養と軟骨細胞の分泌因子の影響を受ける共培養の双方で、MSCは軟骨由来のPG分解物によって分化が促進されており、後産由来のPGよりも軟骨由来のPGがMSCの軟骨分化には有効であることが示唆された。

4. まとめ

本研究によって軟骨由来のPG分解物がMSCの軟骨分化には有効であることが分かった。未分化のMSCには軟骨由来のPGが有効であるが、分化後の軟骨細胞における両PG分解物の効果、例えば軟骨細胞の形態維持機能や脱分化した軟骨細胞の再分化効果等、未解明な点が多いため、再生医療への実用化に際しては、PG分解物の効果に関して更なる検討が必要であろう。