

光増感色素修飾基板がラット間葉系幹細胞の分化に与える影響の解析

(阪府大院理) ○柴田 了哉・森 英樹・原 正之

Analysis of the Effect of Photosensitizer-Immobilized Glass Slides on the Differentiation of Rat Mesenchymal Stem Cells (*Graduate School of Science, Osaka Prefecture University*) ○Ryoya Shibata, Hideki Mori, Masayuki Hara

Recently, it has been reported that the generation of reactive oxygen species (ROS) stimulates the differentiation of somatic stem cells used in regenerative medicine. The glass slides was modified with a photosensitizer (PS), hematoporphyrin IX using a carbodiimide-based crosslinking reaction. Mesenchymal stem cells (MSC) derived from rat bone marrow were cultured on the glass slides. We investigated the effects of ROS produced by photosensitization under visible light illumination on the differentiation of MSCs. Intracellular ROS production was detected by using a fluorescent dye indicator CM-H₂DCFDA under the illumination. The expression of genes involved in osteogenic, chondrogenic and adipogenic differentiation were changed in MSCs cultured for 24h on the glass slide irrespective of the illumination, shown by the qRT-PCR analysis.

Keywords : *Photosensitization; Reactive Oxygen Species; Mesenchymal Stem Cell*

近年、低レベルの活性酸素種 (reactive oxygen species : ROS) が再生医療分野で用いられる体性幹細胞の分化誘導刺激となるという報告がある。我々は、光照射によって ROS を生じる光増感色素の Hematoporphyrin IX (HP) をカルボジイミド架橋剤 EDC を用いてアミノ基修飾ガラス基板上に修飾し、基板上でラット骨髄由来の間葉系幹細胞 (MSC) を接着培養した。さらに、MSC を培養している基板の下面から光照射を施した。光照射で生じる微量の ROS が、細胞内の ROS 生成と細胞分化に与える影響を解析した。細胞内 ROS 検出試薬 CM-H₂DCFDA の蛍光染色によって、HP 修飾基板上で培養した細胞内に、ROS の発生が観察された。また、照射後 24 時間培養した MSC における骨、軟骨、脂肪分化の各々の分化マーカーとなる遺伝子の発現変化を定量的 RT-PCR 法で解析した。光照射の有無に関わらず HP 修飾基板上で培養した細胞で骨、軟骨、脂肪分化マーカー遺伝子の発現変化が見られた。