

27PA-am154

脂肪組織からのヒトコラーゲンの分離

○山岡 尚世¹, 山辺 智代³, 安田 誠⁴, 中込 和哉⁴, 田中 秀幸², 山岡 桂子⁴, 小室 裕造¹
(¹帝京大医形成, ²帝京大医解剖, ³帝京大 中央機器室, ⁴帝京大薬)

【目的】コラーゲンは生体内における細胞外マトリックスの主要な成分である。細胞培養において、コラーゲンを利用することにより細胞の接着、増殖、分化を促進するという報告が数多くされており、コラーゲンコートディッシュなど、すでに商品化されているものも多い。現在、培養目的に広く用いられているコラーゲン基質はウシ、またはブタ由来のものであり、ヒト由来の細胞を培養する場合は異種の基質を用いていることになる。そこで本研究では、形成外科における脂肪吸引手術の際に破棄されてしまう脂肪組織に着目し、そこからコラーゲンを分離、精製してコラーゲンコートディッシュの作製を試みた。そして、これを用いてヒト由来の細胞を培養した場合の細胞への影響について検証した。【方法】ヒト脂肪組織からアミノ酸分析によりコラーゲンを確認し、ポリアクリルアミド電気泳動、FPLC 法、HPLC 法を用いてコラーゲンの型を同定および定量した。コーティングには得られたコラーゲンのうち I、III 型を用いた。6cm ポリスチレンディッシュにコラーゲン濃度が 0.3mg/ml となるようにコーティングした。作製したディッシュにヒト真皮由来の線維芽細胞を各 2.5×10^5 個播種し 7 日間培養後に回収して細胞の生存率および接着率を測定した。【結果】脂肪組織 300g 中のコラーゲン量は 99mg であり、そのうち I、III 型は 66.9mg、IV 型は 10.6mg、V 型は 6.5mg、VI 型は 15mg であった。生存率は各種コラーゲンコートディッシュの方がコート無しに比べて有意に高値であり、細胞接着数はヒト脂肪由来コラーゲンが最も高値であった。【考察】培養に用いる基質は異種よりも同種の方が細胞親和性が高いことが示唆された。