OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	A novel and efficient method for culturing mouse nucleus pulposus cells
Author(s)	串岡, 純一
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76450
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　　名 Name	串岡　純一
論文題名 Title	A novel and efficient method for culturing mouse nucleus pulposus cells (マウス髄核細胞の新規効率的培養方法)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

As degeneration of the nucleus pulposus (NP) is a major cause of intervertebral disc degeneration, research directed toward nucleus pulposus cells (NPCs) is drawing increased attention. However, caused by the difficulties associated with their harvest and culture, there are few reports describing cultivation methods for mouse NP cells (mNPCs). This study aimed to establish efficient culture methods for mNPCs.

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

Methods: After primary 3-dimensional (3D) gel culture of mNPCs and analysis of gene expression, cells digested from the gel were cultured in various bio-coated dishes with and without basic fibroblast growth factor (bFGF), and their growth kinetics and changes in gene expression profiles were evaluated. Next, the mNPCs obtained after sequential 3D gel and 2D culture were subjected to micromass culture and the effects of adding transforming growth factor-β3 (TGF-β3) on their gene expression profile and extracellular matrix (ECM) synthesis were evaluated.

Results: The cell morphology and gene expression pattern of mNPCs proliferated in primary 3D collagen gel culture resembled those of mNP. In contrast, mNPCs could not proliferate in conventional monolayer culture. Cell adhesion (colony number) and proliferation (colony size) were greater in fibronectin-coated dishes than in dishes with other bio-coatings. The addition of bFGF enhanced mNPCs proliferation, but the gene expression characteristics of mNPCs were lost as passage number increased. 2D culture with bFGF followed by micromass culture allowed for the recovery of the mNPC gene expression profile in primary 3D-gel culture, and TGF-β3 supplementation during micromass culture enhanced ECM synthesis.

〔総　括(Conclusion)〕

We established novel culture methods for mNPCs. These methods will benefit basic cell-based and molecular research involving these cells.

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）串岡　純一

	（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査　大阪大学教授	中田 研
	副　査　大阪大学特任教授	田中 宏之
	副　査　大阪大学特任教授	前達雄

論文審査の結果の要旨

椎間板中央部に位置する髄核の変性が椎間板変性の主因と考えられており、髄核細胞に対する研究が注目されている。これまでにヒトや大動物での髄核細胞培養法の報告はあるが、マウスはサイズが小さく髄核細胞の培養が困難である。今回、マウス髄核細胞の新規効率的培養方法について検討した。

マウス髄核組織を採取後、初代３次元培養方法により細胞増殖を認め、髄核組織と類似した遺伝子発現を確認した。次にゲルを溶解して継代２次元培養を試すと、fibronectinコート皿において最も細胞接着能、細胞増殖能の上昇を認めた。さらにbasic fibroblast growth factor(bFGF)添加培地により細胞増殖能が上昇したが、継代につれて髄核特異的遺伝子発現は失われていった。bFGF添加培地での継代２次元培養後に軟骨分化基礎培地での高密度培養を行うと、髄核特異的遺伝子発現は回復した。

今後、本培養方法を用いてマウス髄核細胞を培養することにより、分子生物学的研究や細胞治療研究の発展が期待され、学位に値するものと認める。