

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-224155

(P2005-224155A)

(43) 公開日 平成17年8月25日(2005.8.25)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 5/06	C 1 2 N 5/00	2 G 0 4 5
C 1 2 Q 1/02	C 1 2 Q 1/02	4 B 0 6 3
G 0 1 N 33/48	G 0 1 N 33/48	4 B 0 6 5
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/53	4 C 0 8 1
// A 6 1 L 27/00	A 6 1 L 27/00	
審査請求 未請求 請求項の数 26 O L (全 15 頁)		

(21) 出願番号 特願2004-35177 (P2004-35177)

(22) 出願日 平成16年2月12日 (2004.2.12)

(71) 出願人 800000013

有限会社山口ティール・エル・オー
山口県宇部市東樞返1丁目10番8号 常盤工業会館内

(74) 代理人 100080539

弁理士 高木 義輝

(72) 発明者 三浦 俊郎

山口県宇部市南小串1丁目1番1号 山口大学大学院医学研究科

Fターム(参考) 2G045 AA24 BB20 BB24 BB50 CB01
FA11 FA16 FB03 FB07 FB12
4B063 QA01 QA06 QA18 QQ08 QQ61
QR41 QR77 QX02
4B065 AA93X AC20 BA30 BB19 BB40
BC50 CA44
4C081 AB34 AC03 CD34

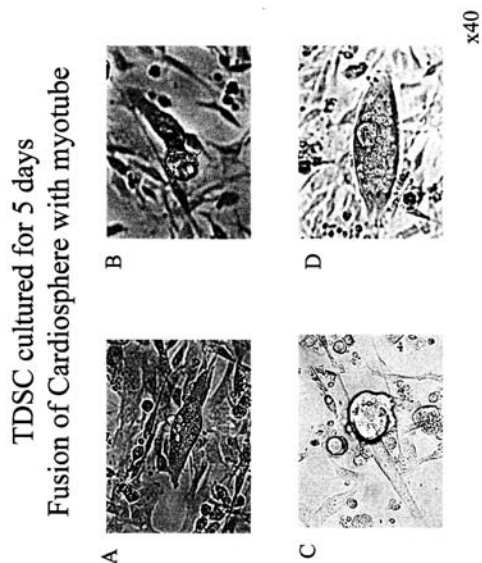
(54) 【発明の名称】 舌組織から単離された、自動拍動する心筋細胞に分化する能力を有する細胞および細胞の培養、分化誘導法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 自己舌組織から、拍動する心筋細胞を創生するための細胞、細胞の培養、分化誘導法の提供。再生医学に多大な貢献をする。

【解決手段】 バイオプシーによってヒトからも採取可能な組織、特に自己舌組織幹細胞から、SCA1陽性でCD34の細胞を採取し、脱メチル化剤を用いずに、血小板由来増殖因子や上皮細胞増殖因子のような成長因子を含む培地の使用と、培養における細胞外環境因子として遠心負荷をかける方法によって、拍動する心筋細胞を誘導する。

【選択図】 図8



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

舌組織から単離された、自動拍動する心筋細胞に分化する能力を有する細胞。

【請求項 2】

電氣的細胞間連絡を形成する心筋細胞に分化しうる細胞である請求項 1 に記載の細胞。

【請求項 3】

細胞が、少なくとも心筋細胞、骨格筋細胞に分化する、請求項 1 ~ 2 のいずれか 1 項に記載の細胞。

【請求項 4】

細胞が、SCA 1 陽性である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の細胞。

10

【請求項 5】

細胞が、CD 3 4 陰性である、請求項 4 に記載の細胞。

【請求項 6】

細胞が、CD 3 8 陰性もしくは陽性である、請求項 5 に記載の細胞。

【請求項 7】

細胞が、さらに CD 3 1 陰性もしくは陽性である、請求項 6 に記載の細胞。

【請求項 8】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の細胞から誘導される心筋細胞に特異的に分化誘導される心筋前駆細胞。

【請求項 9】

心室筋細胞に分化する能力を有する、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の細胞。

20

【請求項 10】

洞結節細胞に分化する能力を有する、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の細胞。

【請求項 11】

舌組織がほ乳動物由来のものである、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の細胞。

【請求項 12】

ほ乳動物がマウス、ラット、モルモット、ハムスター、ウサギ、ネコ、イヌ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ヤギ、サルおよびヒトから選ばれる 1 種である、請求項 11 記載の細胞。

【請求項 13】

染色体 DNA の脱メチル化薬を必要とせず心筋細胞に分化する能力を有する、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の細胞。

30

【請求項 14】

圧負荷培養によって拍動する細胞の頻度を増加させることができる請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の細胞。

【請求項 15】

培養に使用するサイトカインが血小板由来増殖因子 (PDGF)、上皮細胞増殖因子 (EGF)、白血病抑制因子 (LIF) からなる群から選ばれる少なくとも 1 種である、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の細胞。

【請求項 16】

培養に使用する接着分子がゼラチン、ラミニン、コラーゲンおよびフィブロネクチンからなる群から選ばれる少なくとも 1 種である、請求項 15 記載の細胞。

40

【請求項 17】

心筋細胞への分化を確認する転写因子の発現が、Nkx2.5、GATA4、MEF2C、ANP、BNP、Cx43、 α -myosin heavy chain、MLC2a、MLC2v、troponin I からなる群から選ばれる少なくとも 1 種である、請求項 11 に記載の細胞。

【請求項 18】

心筋細胞への分化を促進する細胞外環境因子として細胞外カルシウム濃度に依存する因子、細胞内カルシウム濃度に依存する因子、から選ばれる少なくとも 1 種である、請求項 11 記載の細胞。

【請求項 19】

50

心筋細胞への分化を促進する細胞外環境因子として細胞内カルシウム濃度に依存する因子として、カルシウム - カルモデュリンキナーゼを介する請求項 18 記載の細胞。

【請求項 20】

心筋細胞への分化を促進する細胞外環境因子として細胞内カルシウム濃度を調節する因子として、Wnt からシグナルを介する請求項 19 記載の細胞。

【請求項 21】

心臓に移植することにより心筋細胞に分化する能力を有する請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の細胞。

【請求項 22】

心筋細胞への分化を促進する細胞外環境因子として圧負荷をかけ培養する方法。 10

【請求項 23】

心筋細胞への分化を促進する細胞外環境因子として遠心負荷をかける培養方法。

【請求項 24】

拍動する心筋を fluo3、Fura2 などの蛍光色素を用いて細胞内カルシウム動態、カルシウムトランジェントを測定する方法。

【請求項 25】

拍動する心筋細胞間の電気的な結合を fluo3 蛍光色素を用いて確認する方法。

【請求項 26】

拍動する心筋細胞間の電気的な結合を Cx43 の免疫染色を用いて確認する方法。 20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、自己舌組織から拍動する心筋細胞を創生するための細胞、および細胞の単離、精製、培養、分化誘導法に関する。また本発明は、各種サイトカイン、接着因子などを用いた、心筋細胞への分化能を有する細胞の増殖方法および心筋細胞への分化を制御する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

心不全の原因として、心筋梗塞、心筋炎、拡張型心筋症、二次性心筋症、高血圧性などがあり、特に近年、生活習慣の欧米化によって心筋梗塞によるものが増えている。心不全の治療法としては、強心薬、アンジオテンシン変換酵素阻害薬、アンジオテンシン受容体拮抗薬、遮断薬、アルドステロン拮抗薬、利尿薬などを用いた薬物療法が中心であるが、失われた心筋量が多い場合や、心筋そのものの変性が著しい場合には心臓移植しか有効な治療法がない。しかし、心臓移植はわが国では特に心臓提供者が得られにくく、心臓移植が施行されて数年になるが、いまだに 10 数例の治療例しかないのが現状である。そこで、胚性幹細胞や自己組織幹細胞、中でも自己骨髄中の幹細胞による心筋細胞の分化誘導が試みられているが、心筋細胞への誘導効率が極めて低く、再現性に乏しいことや、移植しても、自己の心筋細胞と電気的な結合を形成せず、不整脈の原因になったり、また、細胞のソースとして胎児や新生児の心筋細胞を用いるために倫理的な反対が続出しており、新たな、細胞ソースが求められているがいまだに、画期的な細胞ソースは見出されていない。近年、マウス成体の骨髄から、心筋細胞に分化する能力を有する細胞を得たという報告がある（非特許文献 1 および非特許文献 2）。また、生体組織とくに骨髄から単離された少なくとも心筋細胞に分化する能力を有する細胞に関する特許が出願されている（特許文献 1）。しかし、前述の発明は、心筋細胞に分化する細胞を得るために脱メチル化剤を用いなければならないため、染色体 DNA に損傷を受けた変異細胞となっている可能性があり、臨床応用には耐えない方法と考えられる。また、心筋から組織幹細胞を分離し、心筋梗塞マウスで心筋への分化を認めた方法も報告されているが、（非特許文献 3）、心臓 40 50

からそのような細胞を得ることは実際の臨床においては不可能であると考えられる。また、骨格筋から骨格筋の前駆細胞を分離し、心筋に移植する実験が行われているが、骨格筋からの細胞は心筋と電氣的結合ができず、不整脈の原因になる可能性が示されており、この方法も限界があると考えられる（非特許文献4）。

【0003】

また、成体マウス筋肉由来の細胞を、脱メチル化剤等の分化誘導剤を用いずに培養することにより拍動する心筋様細胞に分化することを見出し、この心筋様細胞を（1）心筋分化・再生に関わる遺伝子の同定および評価、（2）心不全・心筋梗塞など心疾患をはじめとする種々の疾患の細胞移植、（3）心筋分化を促進する化合物の探索および評価、（4）細胞移植効率を上昇させる薬剤（移植細胞の生体組織への定着・機能促進）の探索および評価、（5）心不全治療剤を開発するためのモデル動物作成などに用いることを請求している特許がある（特許文献2）。

10

【特許文献1】特願2001-548664

【特許文献2】特願2003-59297

【非特許文献1】J. Clinical Investigation, 103, 10-18(1999)

【非特許文献2】Cell, 114:763-776, (2003)

【非特許文献3】PNAS, 100:12313-12318, 2003

【非特許文献4】Circulation, 107:3088-3092, (2003)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

20

【0004】

本発明は、心筋細胞への分化能を有する舌組織由来の細胞およびその用途等に関するものであり、自己の舌組織を用いる場合には、ヒトの心疾患の治療にも用いることができる。また、心筋細胞への分化能を有する舌組織由来の拍動する心筋細胞を移植された移植動物（ヒトを除く）は、心疾患の予防・治療剤となりうる化合物を探索するためのスクリーニング等にも利用できる。

【0005】

世界で始めて自己舌組織幹細胞から、脱メチル化剤を用いずに、成長因子と圧負荷によって拍動する心筋細胞を誘導させることに成功した。特に、舌組織というバイオプシーによって採取可能な組織から誘導できたことは非常に有用で、再生医学に多大な貢献をし得る発明と考えられる。

30

【0006】

本発明では、変異原性のある薬物を使用しないで分化を誘導できること、再現性を持って、自己拍動する心筋細胞を得ることができること、電氣的接合を形成し協調して拍動すること、細胞内カルシウムトランジェントを測定することができるまったく新規な細胞ソースとその分化誘導法を考案したのでここに特許申請する。

【課題を解決するための手段】

【0007】

これまで心筋細胞を自己の組織幹細胞から誘導できると報告されたものは、骨髄中の幹細胞に脱メチル化剤を投与し、頻回の培養を繰り返しているうちに、たまたま出現した拍動する細胞を採取してcell line化する方法(CMG cell)であるが、再現性がほとんどなく、新規に骨髄よりこのような細胞を繰り返して分離することは困難である。また胚性幹細胞(ES細胞)から拍動する心筋細胞が比較的簡単に誘導できるが、これは自己の細胞ではなく免疫学的な問題や、倫理的問題が大きく、現時点では臨床的には使用できない。発明者らは、今回、拍動する心筋細胞を初回培養で、高率に、再現性を持って、しかも変異原性のある脱メチル化剤を使用せずに分化誘導できる方法を発明した。

40

【0008】

本発明の細胞は、舌組織から単離された、自動拍動する心筋細胞に分化する能力を有する細胞である。また、この細胞は、電氣的細胞間連絡を形成する心筋細胞に分化しうる細胞であり、少なくとも心筋細胞、骨格筋細胞に分化しうる細胞である。これらの細胞は、

50

幹細胞に特異的な細胞表面マーカー（たとえばSCA1）が陽性である細胞、CD38陰性もしくは陽性である細胞、さらにCD31陰性もしくは陽性である細胞が含まれる。また、これらの細胞から誘導される、心筋細胞に特異的に分化誘導される心筋前駆細胞、心室筋細胞に分化する能力を有する細胞、洞結節細胞に分化する能力を有する細胞も含まれる。舌組織は、ほ乳動物由来のものであり、具体的にはマウス、ラット、モルモット、ハムスター、ウサギ、ネコ、イヌ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ヤギ、サルおよびヒトから選択できる。

【0009】

染色体DNAの脱メチル化薬を必要とせず心筋細胞に分化する能力を有する細胞は、圧負荷培養によって拍動する細胞の頻度を増加させることができる。また、培養に使用するサイトカインは、血小板由来増殖因子（PDGF）、上皮細胞増殖因子（EGF）、白血病抑制因子（LIF）および骨形成因子2、4（BMP-2、4）、Wntからなる群から選ばれる少なくとも1種である。また培養に使用する接着分子は、ゼラチン、ラミニン、コラーゲンおよびフィブロネクチンからなる群から選ばれる少なくとも1種である。心筋細胞への分化を確認する転写因子の発現は、Nkx2.5、GATA4、MEF-2C、ANP、BNP、Cx43、 α -myosin heavy chain、MLC2a、MLC2v、troponin Iからなる群から選ばれる少なくとも1種である。心筋細胞への分化を促進する細胞外環境因子としては、細胞外カルシウム濃度に依存する因子、細胞内カルシウム濃度に依存する因子から選ばれる少なくとも1種である。また、心筋細胞への分化を促進する細胞外環境因子として細胞内カルシウム濃度に依存する因子として、カルシウム-カルモデュリンキナーゼを介する細胞である。さらに、心筋細胞への分化を促進する細胞外環境因子として細胞内カルシウム濃度を調節する因子として、Wntからのシグナルを介する細胞である。さらに、心臓に移植することにより心筋細胞に分化する能力を有する細胞である。

【0010】

本発明の細胞の培養方法は、心筋細胞への分化を促進する細胞外環境因子として圧負荷をかけ培養する方法、心筋細胞への分化を促進する細胞外環境因子として遠心負荷をかける培養方法を用いる。

【0011】

本発明により得られる拍動する心筋を、fluo3やFura2などの蛍光色素を用いて細胞内カルシウム動態やカルシウムトランジエントを測定する方法、拍動する心筋細胞間の電気的な結合をfluo3蛍光色素を用いて確認する方法、拍動する心筋細胞間の電気的な結合をCx43の免疫染色を用いて確認する方法も、本発明に含まれている。

【0012】

成獣の舌組織を、コラゲナーゼ等により酵素処理して単離細胞にし、幹細胞マーカーを認識する抗体で標識し、二次抗体として磁気ビーズで標識したものを用い、陽性細胞を分離する。これを10% FCSを加えたDMEM培地にLIF、EGF、PDGFbb等を加え、37℃、5% CO₂下にて培養する。このとき、特殊な培養器を用いる。すなわち、培養器内に高圧をかけることのできる耐圧の培養器内で培養する。培養後に棒状及び球状の細胞塊が出現し、これらの細胞は互いに融合し、電気刺激なしに一定の自動拍動を起こし、横紋も観察され、心筋細胞に特異的に分化することが確認された。さらに、これらの細胞は免疫組織学的検討、およびRT-PCRによる遺伝子発現により、心筋特異的遺伝子であるNKX2.5、ANP、connexin 43の遺伝子を発現することを確認した。また、myosin、Cx34、troponin Iによる免疫染色により、心筋に分化していることを確認するとともに、これらの細胞はgap junctionを介して結合し、各細胞が同期して拍動しうることを確認した。さらに、細胞内カルシウムトランジエントをカルシウム感受性蛍光色素Fluo3を負荷し、レーザー共焦点顕微鏡で観察したところ、心筋細胞に見られるものと同様の細胞内カルシウムトランジエントを観察した。これらの細胞は2週間培養を続けると、シート状になり、シート全体が同期して拍動するのが観察された。以上より、舌由来幹細胞は特異的に心筋細胞に分化し、自己拍動する能力を有し、細胞間結合を介して同期して拍動、および電気現象をおこすことが証明された。さらに、この心筋細胞分化には、変異原性を有する有害な薬物を用

いることなく、再現性を持って分化誘導することができることを証明した。このような自己拍動する細胞を得ることができ、また拍動する心筋シートをこの細胞から作製することも可能であり、移植に使用可能な幹細胞ソースとして非常に有用であると考えられる。

【発明の効果】

【0013】

自己組織幹細胞から拍動する心筋細胞を、脱メチル化剤を用いずに、成長因子と圧負荷によって誘導させることに成功した。特に舌組織というバイオプシーによってヒトからも採取可能な組織から誘導できたことは非常に有用で、再生医学に多大な貢献をし得る発明と考えられる。

【発明を実施するための最良の形態】

10

【0014】

発明の実施の形態を、実施例にもとづき図面を参照して説明する。

【実施例】

【0015】

マウスの舌組織を0.2%コラゲナーゼで30分間酵素処理して単離細胞にし、幹細胞マーカーの一種としてよく知られているSCA-1に対するモノクローナル抗体で標識し、二次抗体として磁気ビーズで標識したものをを用い、陽性細胞を分離した(Miltenyi社製の市販のキットを使用)。次に、10%FCSを加えたDMEM培地にLIF、EGF、PDGFbbを加え、分離したSCA-1陽性細胞を、37、5%CO₂下にて培養した。このとき、特殊な培養器を用い、培養器内に110mmHgの圧をかけ培養した。7日後に棒状の細胞と球状の細胞塊(cardiosphere)が多数出現し、これらは細胞融合し、電気刺激なしに一定の自動拍動を起こし、横紋も観察され、心筋細胞に特異的に分化することが確認された。さらに、これらの細胞は免疫組織学的検討によりmyosin, Cx 43, troponin Iを発現し、RT-PCRによる遺伝子発現の解析により、心筋特異的遺伝子であるNKX2.5、ANP、connexin 43の遺伝子が発現することを確認した。これらの細胞はgap junctionを介して結合し、各細胞が同期して拍動することを確認した。さらに細胞内カルシウムトランジェントを、カルシウム感受性蛍光色素Fluo3を負荷し、レーザー共焦点顕微鏡で観察したところ、心筋細胞に一致する細胞内カルシウムトランジェントを観察した。これらの細胞は、2週間培養を続けるとシート状になり、シート全体が同期して拍動するのが観察された。以上より、舌由来幹細胞は特異的に心筋細胞に分化しうる能力を有することが証明された。また、有害な薬物を用いることなく、再現性を持って心筋細胞に分化誘導することができることを証明できた。

20

30

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】舌組織由来幹細胞(TDS)から分化した心筋様細胞の免疫染色(Myosin:赤色、connexin 43:黄色、DAPI:青色)の一例。融合したmyosin陽性細胞にconnexin 43が発現していることを示す図である。

【図2】舌組織由来幹細胞(TDS)から分化した心筋様細胞の免疫染色(Myosin:赤色、connexin 43:黄色、DAPI:青色)の一例。融合したmyosin陽性細胞にconnexin 43が発現していることを示す図である。

40

【図3】舌組織由来幹細胞(TDS)の培養2週間目にカルシウム感受性蛍光色素Fluo3を負荷し、レーザー共焦点顕微鏡でカルシウムトランジェントを観察した結果であり、左の図は測定部位を示し、右の図はカルシウムトランジェントを示している図である。

【図4】舌組織由来幹細胞(TDS)の培養2週間目にカルシウム感受性蛍光色素Fluo3を負荷し、レーザー共焦点顕微鏡でカルシウムトランジェントを観察した結果であり、隣接する2つの細胞のカルシウムトランジェントを測定し、これらが同期していることを示すために、左の図は測定部位を示し、右の図はカルシウムトランジェントを示している図である。図A、図Bはそれぞれの細胞のトランジェントを示し、図Cは2つの細胞を合わせてトランジェントを記録したものである。同期していなければ、図Cにおいて図AおよびBと同様な波形は認められないはずであり、2つの細胞は同期していることを示す図であ

50

る。

【図5】舌組織由来幹細胞(TDS)から分化誘導した拍動細胞(1週間、2週間)の遺伝子発現をRT-PCRで検討した結果を示す図であり、対照としてadult heart, 水および大腿筋、を用いて、NKX2.5, ANP, connexin 43といった心筋細胞でのみ見られる遺伝子発現を、TDS細胞を1週間および2週間培養したもののいずれにも認められたことを示す図である(一方、大腿筋にはこれらの遺伝子発現は認められない)。

【図6】舌組織からcollagenaseによって単離した細胞をSCA1 monoclonal 抗体で標識し、磁気ビーズを結合した二次抗体を結合させ、磁気分離カラムによる分離を2回行った後の細胞(TDSC)を、PE conjugated SCA-1抗体と反応させ、Fluorescent activated cell sorter(FACS)により、細胞の大きさ、SCA-1陽性率について解析した結果を示す図である。A. side scatter(縦軸)、forward scatter(縦軸)による細胞分布を示す。 10

B. SCA-1抗原のヒストグラムを示す。黒はTDSCを、grayはnegative controlを示す。C. SCA-1についてnegative controlの分布を示す。D. TDSCのSCA-1陽性細胞の分布を示す(SCA-1陽性率は86%まで濃縮された)。

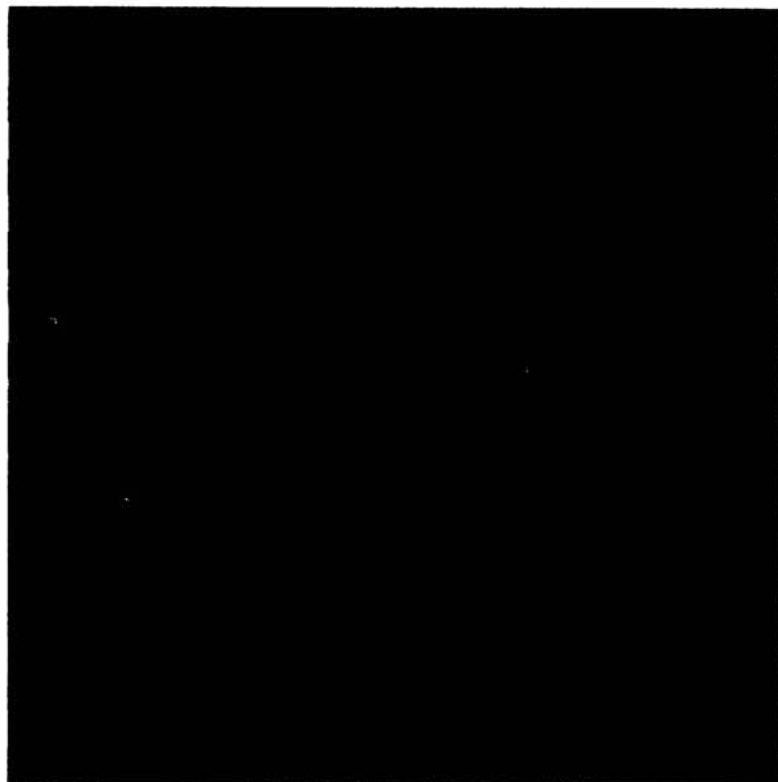
【図7】TDS細胞を5日間培養することにより自己拍動する球形の細胞塊が見られるが、これをCardiosphereと命名した。Cardiosphereは、自己拍動することを確認するとともに、Fluo3負荷による細胞内カルシウムトランジェントも存在することを確認し、また、これらの細胞は棒状の細胞(myotube)とfusionをおこし、自己拍動することを示した図である。

【図8】Cardiosphereとmyotubeはfusionをおこし(図A,B,C)、完全にfusionしたcardiosphereとmyotubeは幅の広い紡錘状の細胞となり自己拍動する(図D)ことを示す図である 20

。

【 図 1 】

TDS 1W



X 40

blue:DAPI, yellow:Connexin43

Red: myosin

TDS 1W Connexin43 (-)



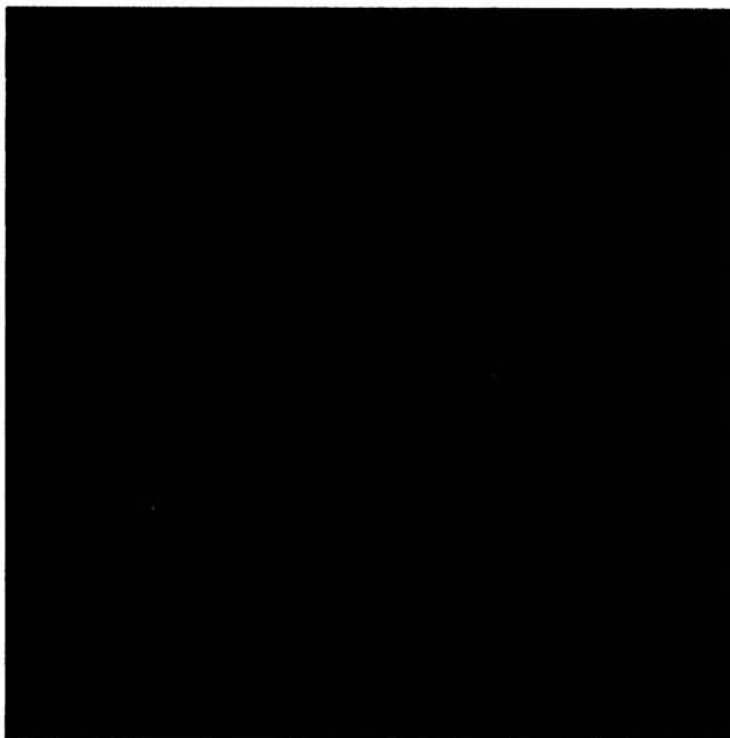
X20

blue:DAPI,

Red: myosin

【 図 2 】

TDS 1W



X20

blue:DAPI, yellow:Connexin43

Red: myosin

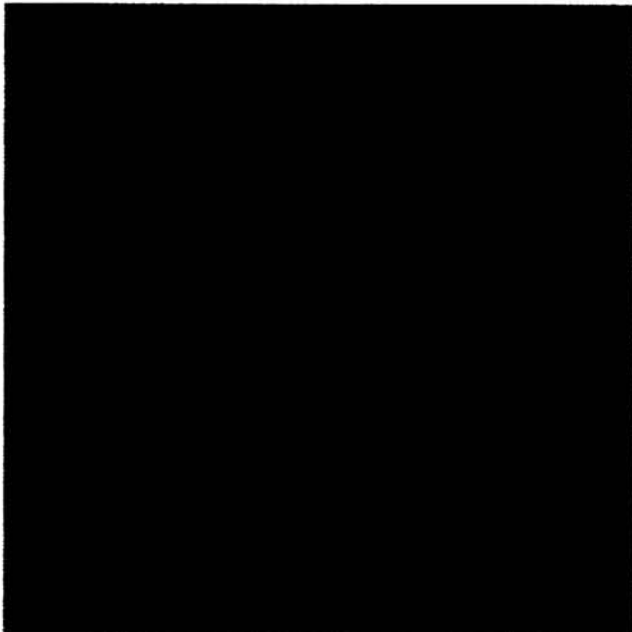
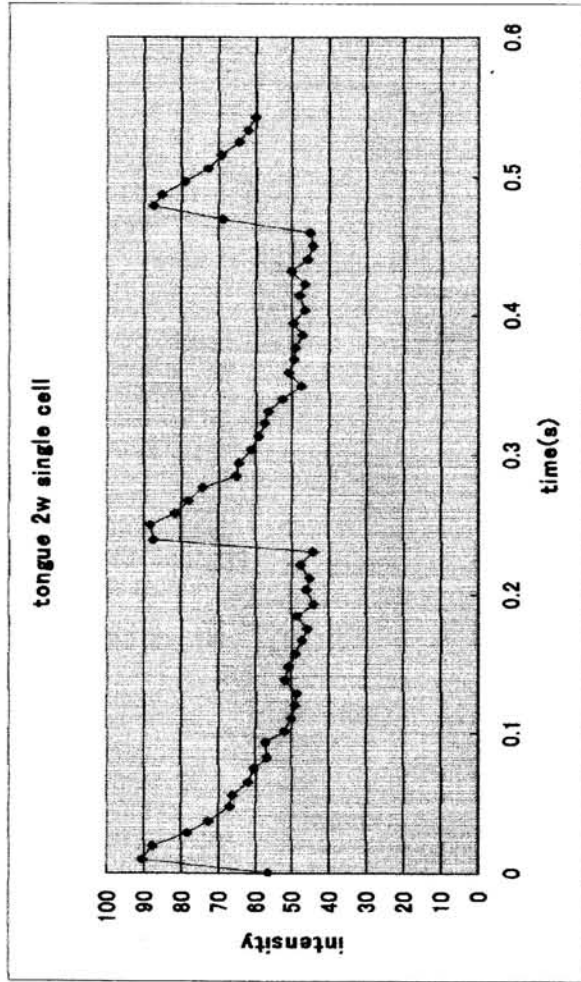


X 40

blue:DAPI, yellow:Connexin43

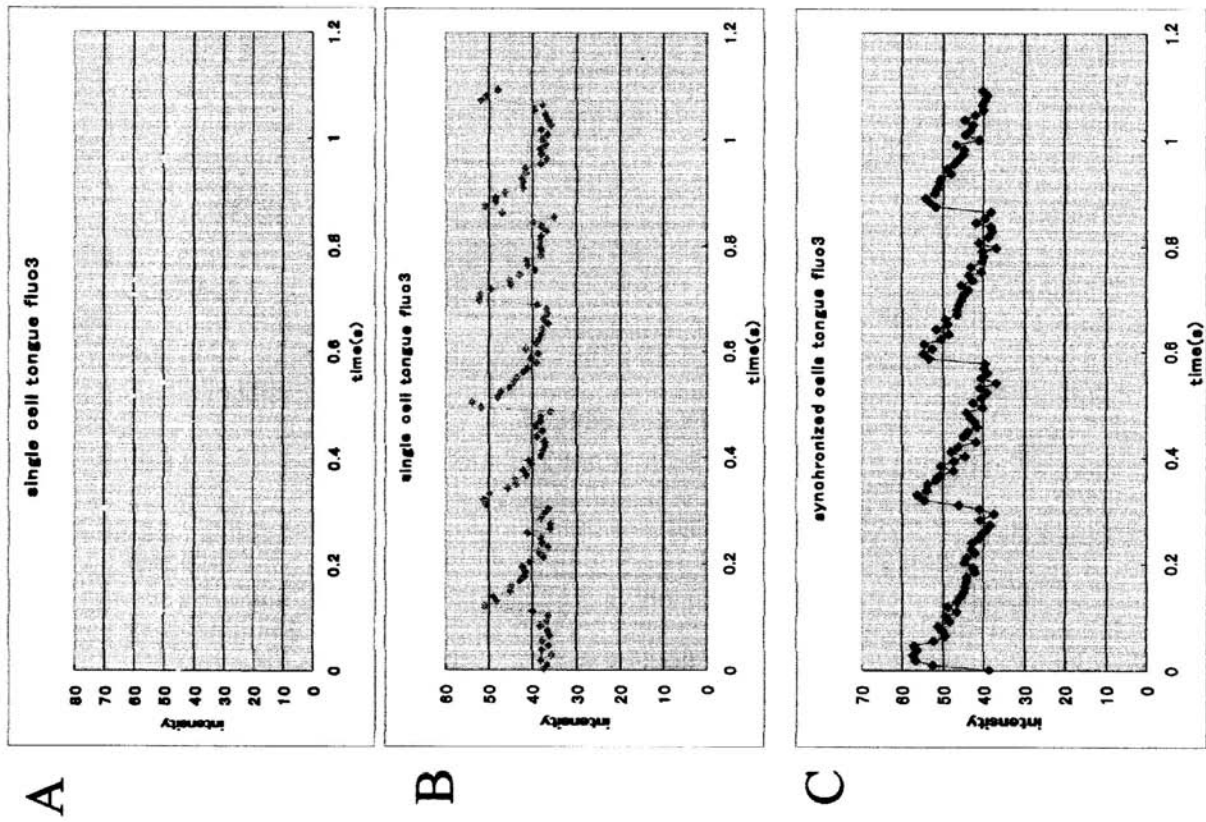
Red: myosin

【 図 3 】



【 図 3 】

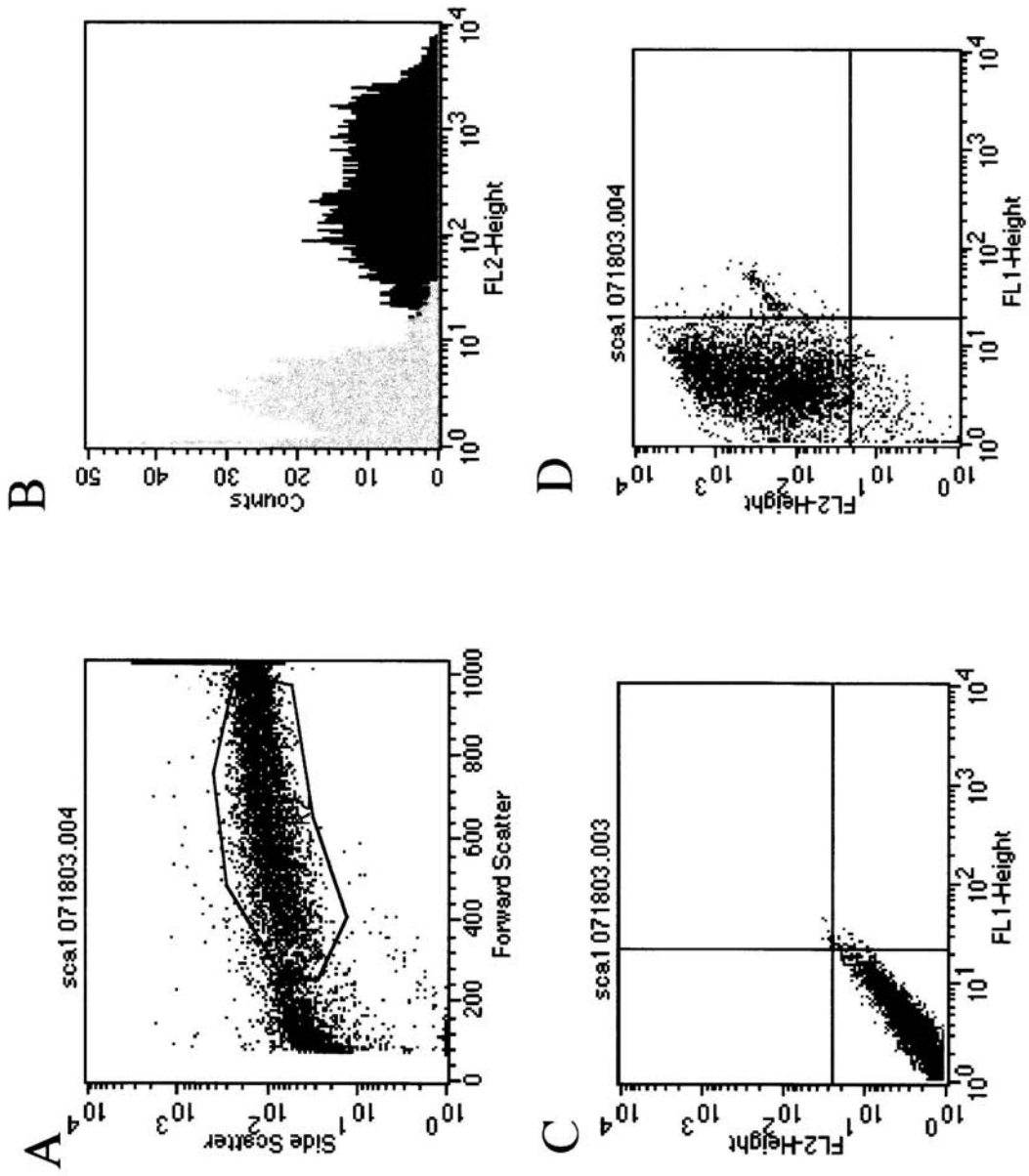
【 図 4 】



【 図 5 】

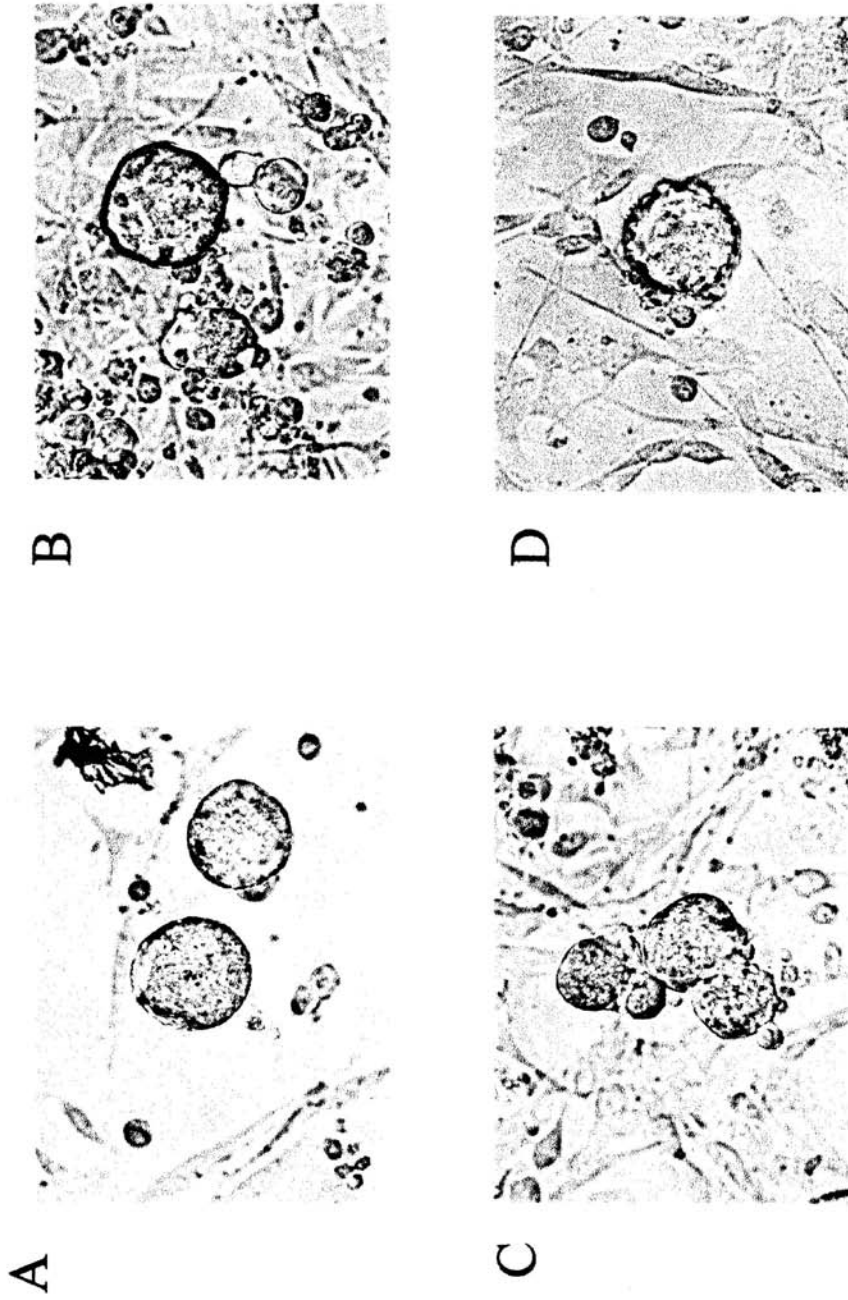


【 図 6 】



【 図 7 】

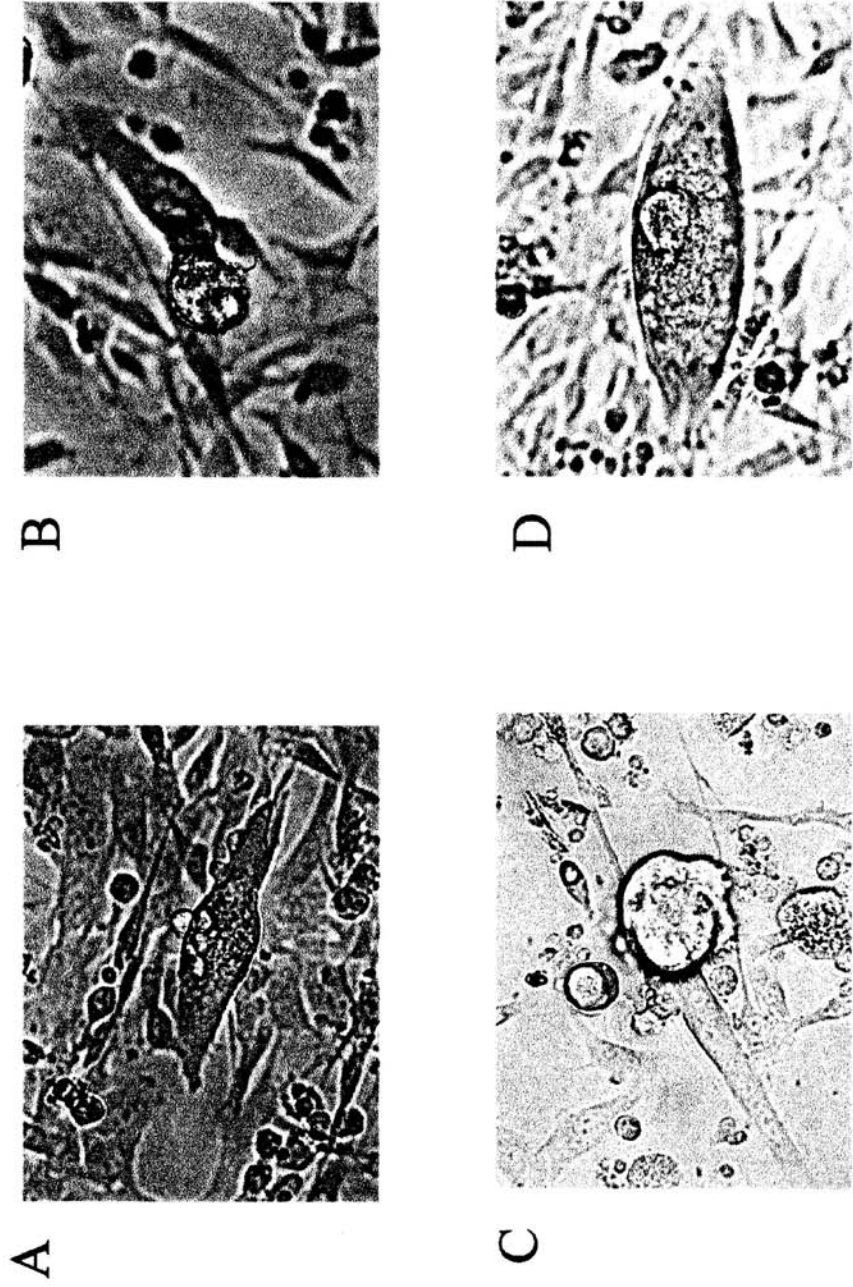
TDSC cultured for 5 days
Formation of Cardiosphere beating spontaneously



x40

【 図 8 】

TDSC cultured for 5 days Fusion of Cardiosphere with myotube



x40

专利名称(译)	细胞和细胞的培养能够分化成从舌组织分离的自体搏动心肌细胞，分化诱导方法		
公开(公告)号	JP2005224155A	公开(公告)日	2005-08-25
申请号	JP2004035177	申请日	2004-02-12
申请(专利权)人(译)	有限公司山口TLO		
[标]发明人	三浦俊郎		
发明人	三浦 俊郎		
IPC分类号	G01N33/48 A61L27/00 C12N5/07 C12N5/074 C12N5/0775 C12N5/0789 C12Q1/02 G01N33/53 C12N5/06		
FI分类号	C12N5/00.E C12Q1/02 G01N33/48.P G01N33/53.Y A61L27/00.E A61L27/00 A61L27/36.100 A61L27/38.100 C12N5/00.202.D C12N5/00.202.H C12N5/00.202.Q C12N5/074 C12N5/0775 C12N5/0789		
F-TERM分类号	2G045/AA24 2G045/BB20 2G045/BB24 2G045/BB50 2G045/CB01 2G045/FA11 2G045/FA16 2G045/FB03 2G045/FB07 2G045/FB12 4B063/QA01 4B063/QA06 4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QQ61 4B063/QR41 4B063/QR77 4B063/QX02 4B065/AA93X 4B065/AC20 4B065/BA30 4B065/BB19 4B065/BB40 4B065/BC50 4B065/CA44 4C081/AB34 4C081/AC03 4C081/CD34		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种用于培养自舌组织跳动的心肌细胞的细胞，细胞培养和分化诱导方法。为再生医学做出重大贡献。解决方案：SCA1阳性CD34细胞是从可以通过活检从人体中收集的组织中收集的，特别是自体舌组织干细胞，血小板衍生的生长因子和表皮生长因子 通过使用含有这种生长因子的培养基和在培养中施加离心负荷作为细胞外环境因子的方法来诱导搏动的心肌细胞。 [选择图]图8

