

図 4 4. AC133 陽性細胞を SCF や TPO 存在下で培養した時に一週間後に出現する CD31 強陽性細胞と AC133 陽性細胞

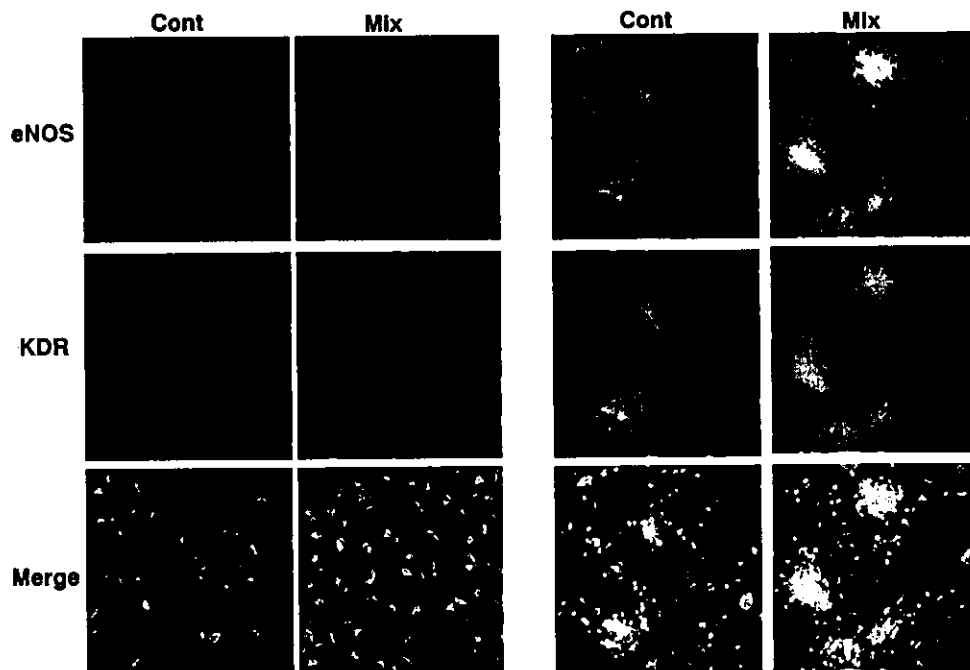


図 4 5. AC133 陽性細胞を SCF や TPO 存在下に培養した時に出現してくる接着細胞

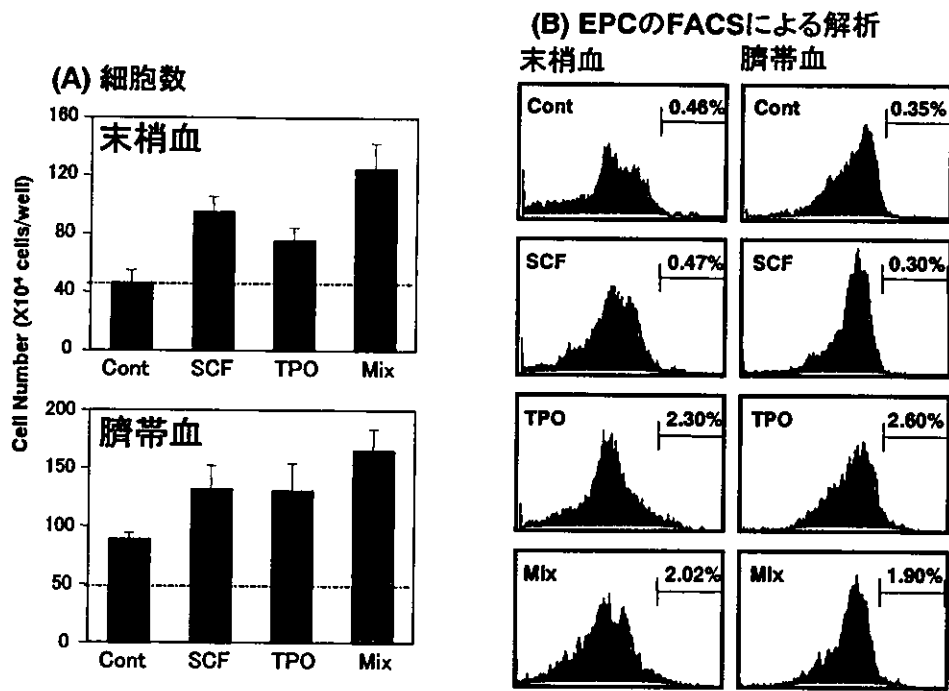


図46. AC133 陽性細胞を SCF や TPO 存在下に培養した時の細胞増殖と出現してくる CD31 強陽性細胞の比率

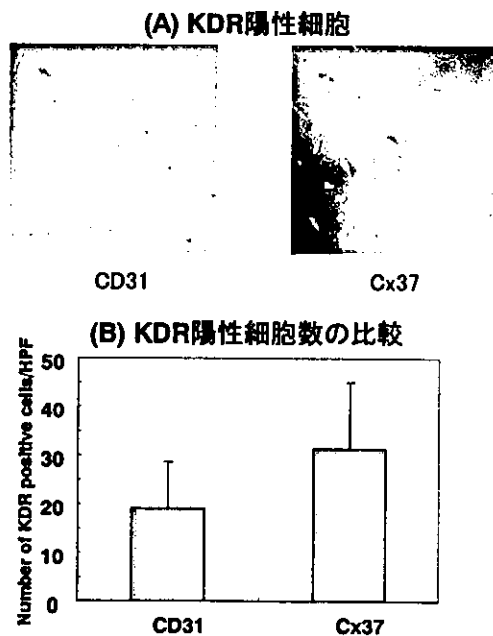


図47. AC133 由来 CD31 及び Cx37 陽性細胞を培養した時の KDR 陽性接着細胞

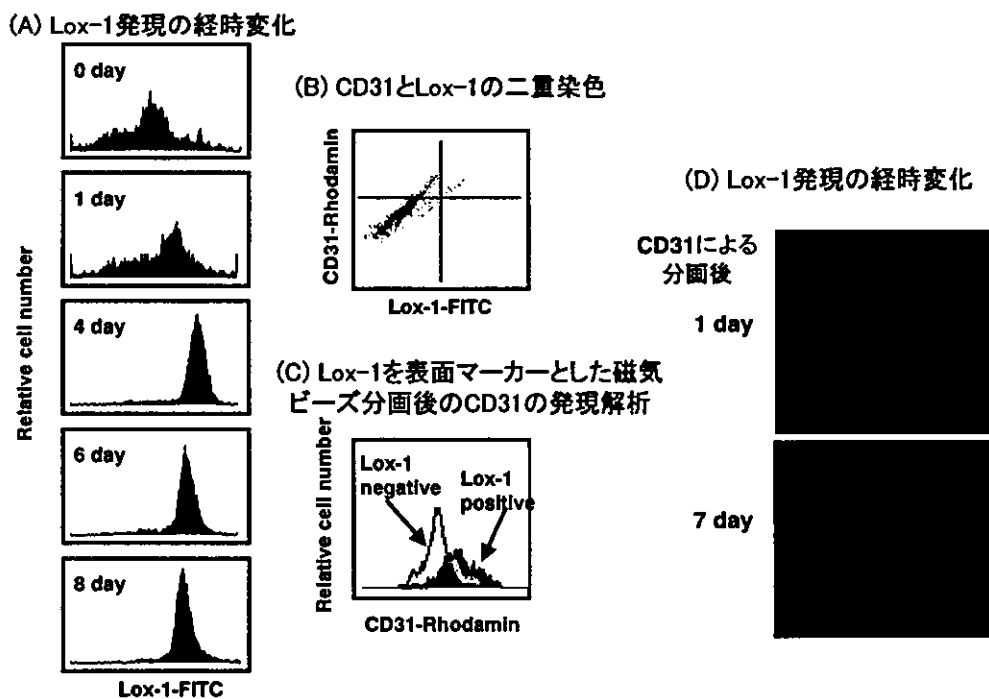


図48. 臍帯血 AC133 陽性細胞を培養したときの Lox-1 発現の経時変化と Lox-1 陽性細胞を磁気ビーズ分画後の CD31 の発現解析

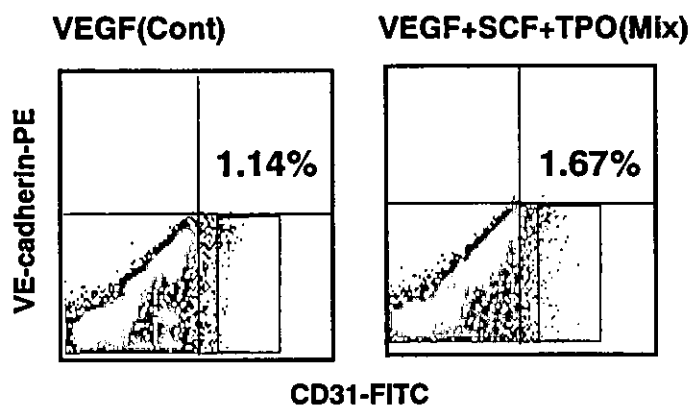


図49. EPCのCD31とVE-cadherinの二重染色

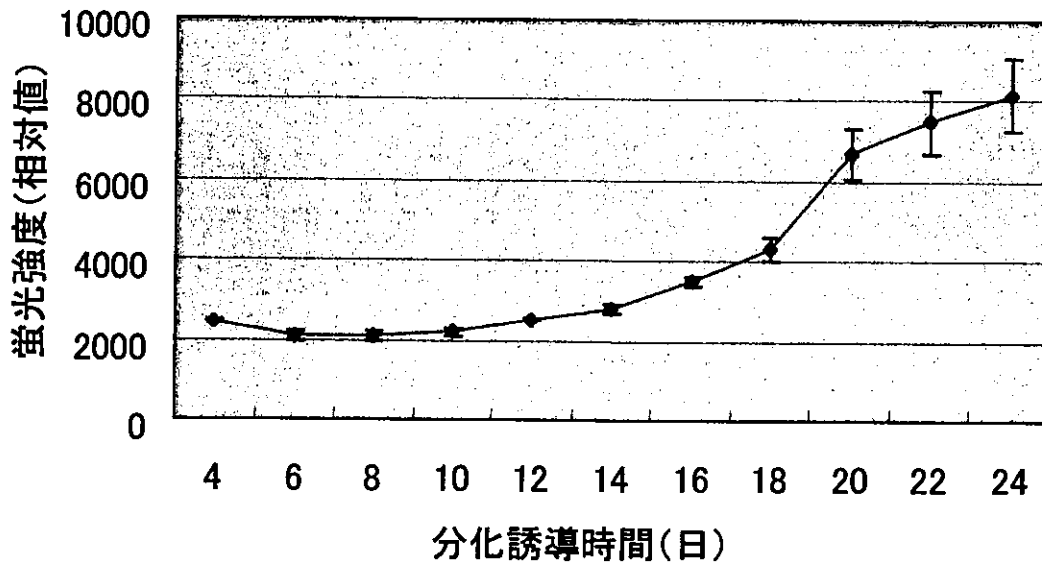
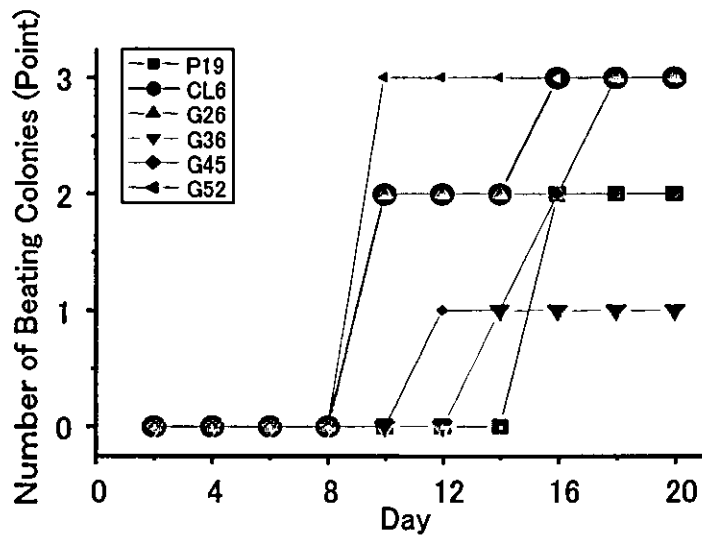


図50. CL6G52株の蛍光強度の時間変化

GFPの励起光によるCL6G52細胞の蛍光強度の時間変化を示す。サブコンフルエントのCL6G52株をトリプシン-EDTA処理により分散した後、1% DMSOを含むMEM α 溶液中で培養して心筋細胞分化を誘導した。分化誘導開始の約2週間後より蛍光強度が増加した。値は平均値 \pm S.E.M. (n=12)を示す。

A. 収縮コロニー数



B. 収縮コロニーサイズ

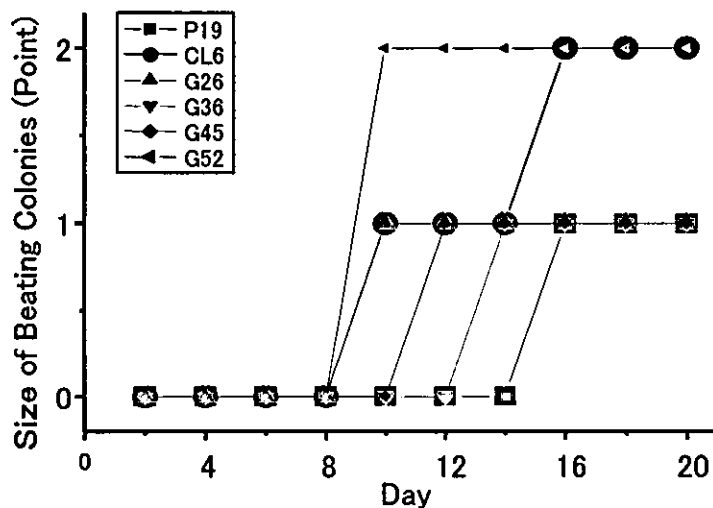


図51. P19由来細胞株の心筋細胞分化の定性的時間経過

サブコンフルエントのP19由来細胞株をトリプシン-EDTA処理により分散した後、1% DMSOを含むMEM α 溶液中で培養して心筋細胞分化を誘導した。A)各細胞株の収縮コロニー数の時間経過を示す。収縮が見られないものに「0」、6穴細胞培養プレート1枚に対して1つ以上の収縮があるものに「1」、プレートのウェル1つに対して1つ以上の収縮があるものに「2」、顕微鏡の視野($\times 200$)に対して1つ以上の収縮があるものに「3」のスコアを与えた。B)各細胞株の収縮コロニーサイズの時間経過を示す。収縮が見られないものに「0」、顕微鏡の視野($\times 200$)の1/100程度の大きさの点状の収縮に対して「1」、顕微鏡の視野($\times 200$)の1/2程度の大きさのシート状の収縮に「2」のスコアを与えた。横軸は心筋分化誘導後の日数を示す。CL6G52株の自動能はGFPの蛍光増加(図1)よりも4日ほど早くの出現している。

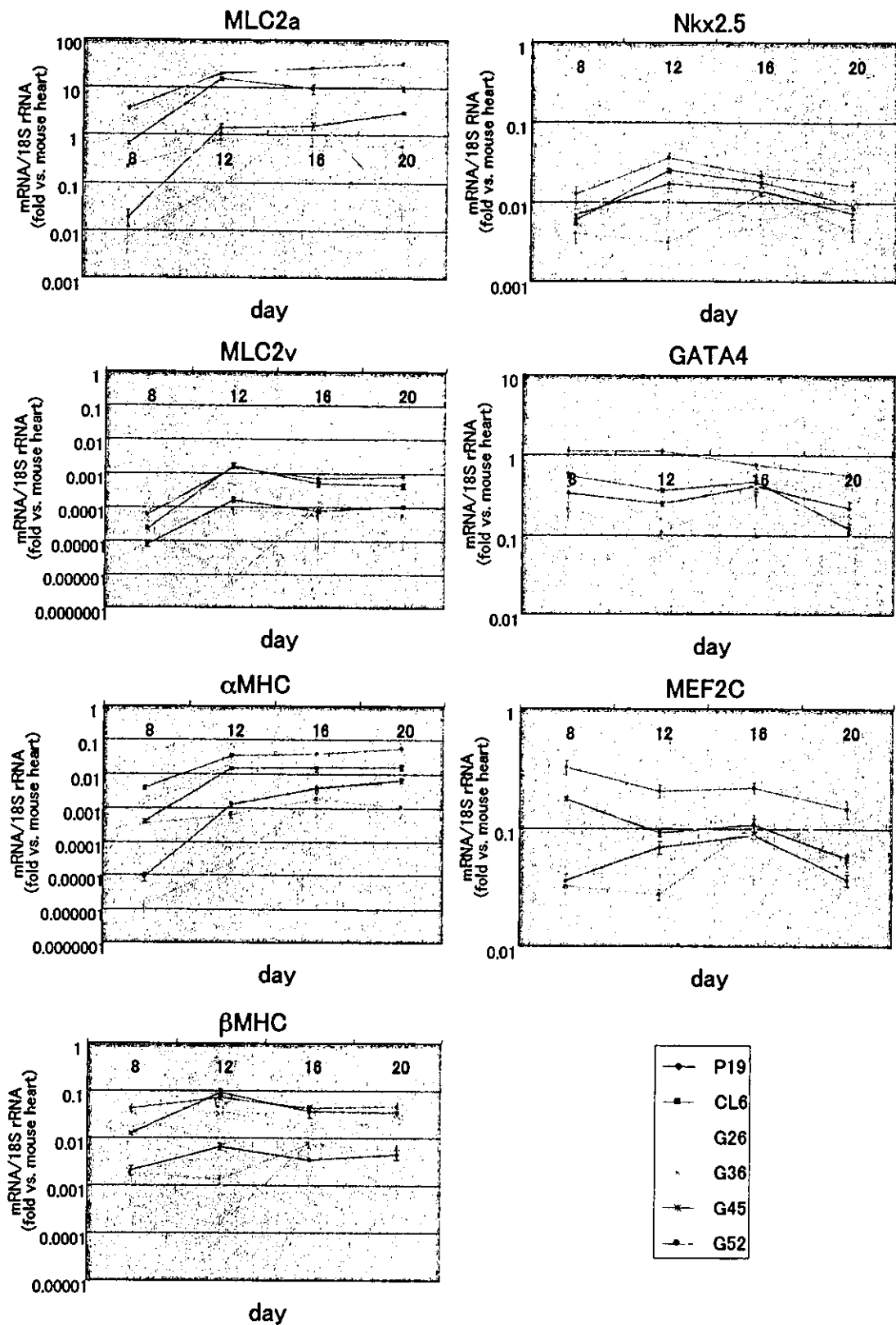
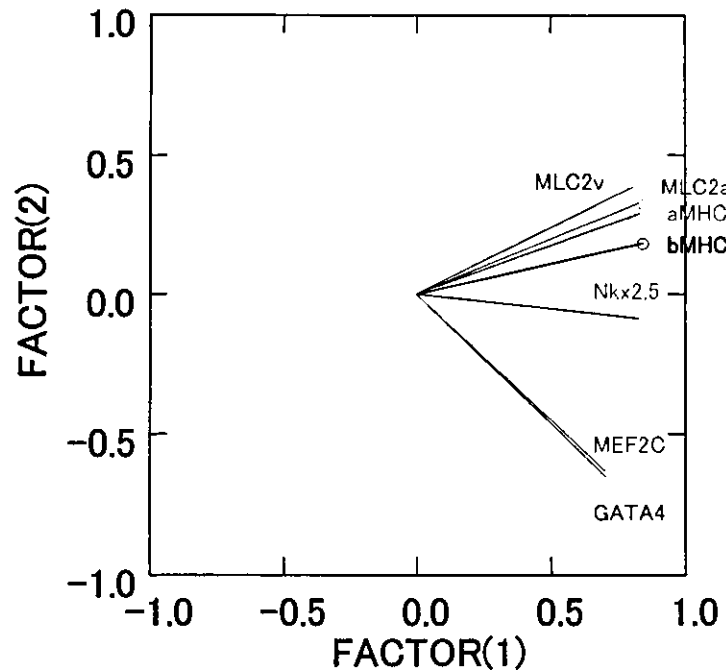


図52. P19由来細胞株における心筋細胞マーカー遺伝子の発現の時間経過
 サブコンフルエントのP19由来細胞株をトリプシン-EDTA処理により分散した後、
 1% DMSOを含むMEM α 溶液中で培養して心筋細胞分化を誘導した。分化誘導開
 始から8, 12, 16, 20日目にtotal RNAを回収し、心筋細胞マーカー遺伝子の発現
 をリアルタイムRT-PCRで定量した。縦軸はmRNA/18S rRNAの値を成体マウス
 心筋と比較した場合の相対値。値は平均値 \pm S.E.M. (n=6)で示す。

A. Factor Loadings Plot



B. Scree Plot

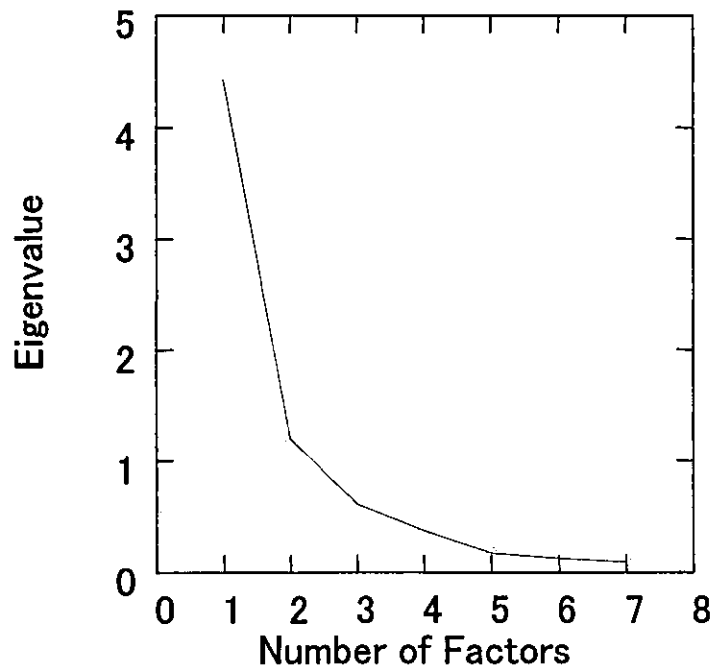


図53. P19由来細胞株の心筋細胞マーカー遺伝子の主成分分析

1% DMSOを含むMEM α 溶液中で培養して心筋細胞分化を誘導したP19由来細胞株における心筋細胞マーカー遺伝子のmRNA発現量(図3中の全データ)を平均値および標準偏差により統計的標準化した後、主成分分析した。A) 第1主成分と第2主成分の変量プロットを示す。係数の傾向から第1主成分は心筋分化の指標、第2主成分は心筋成熟の指標と考えられる。B) 主成分の寄与率を示す。第1主成分の寄与率は7パラメータの65%、第2主成分の寄与率は7パラメータの15%であり、この2つの主成分で資料の80%の情報量をもつことが分かる。

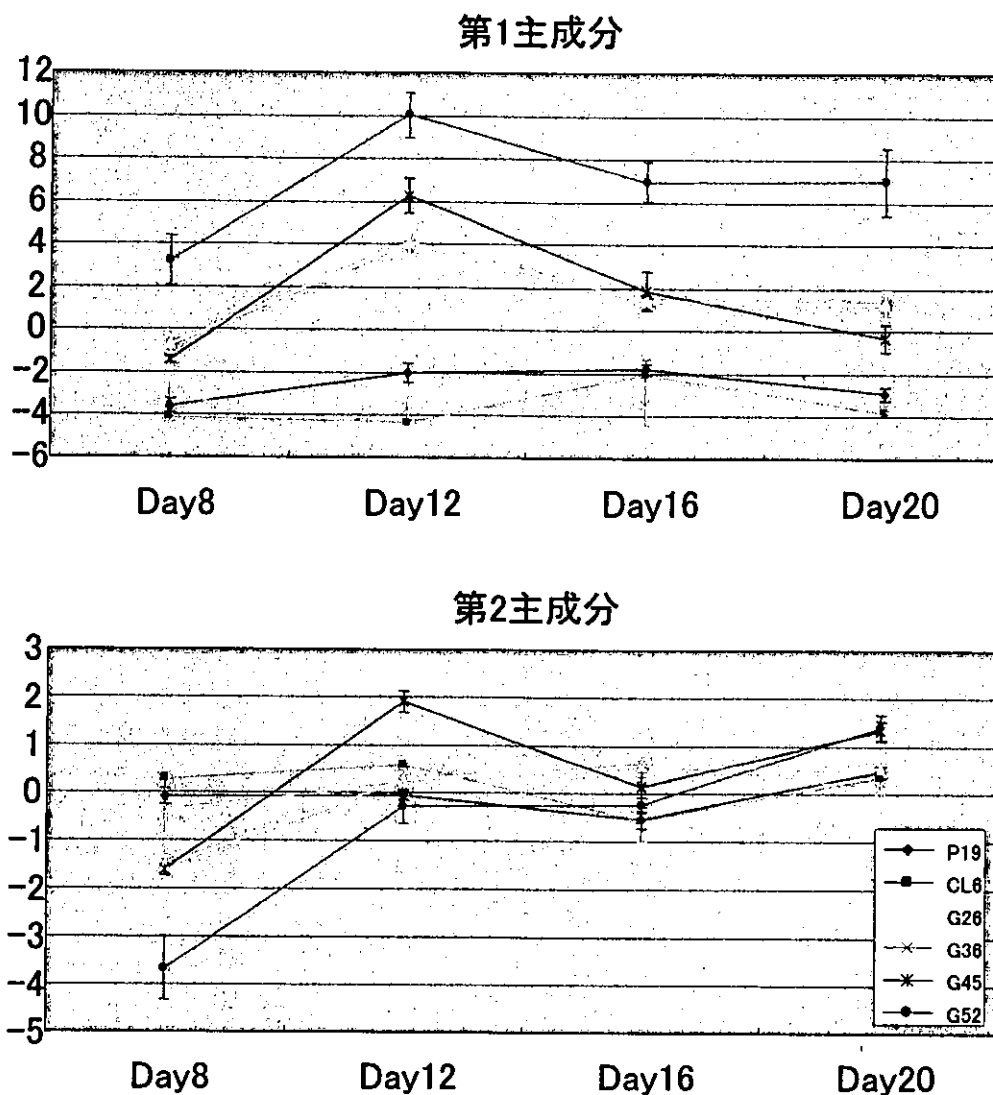


図54. P19由来細胞株の心筋細胞マーカー遺伝子の主成分得点

1% DMSOを含むMEM α 溶液中で培養して心筋細胞分化を誘導したP19由来細胞株における心筋細胞マーカー遺伝子のmRNA発現量データを主成分分析した際の第1主成分および第2主成分の主成分得点。主成分得点とは、求めた主成分から個々の資料の値を見たものである。

表8. 心筋細胞分化と有意な相関のある「心筋細胞分化予測マーカー」候補遺伝子

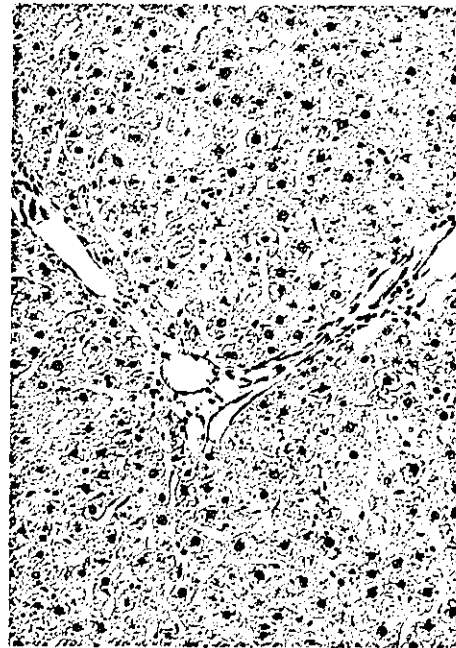
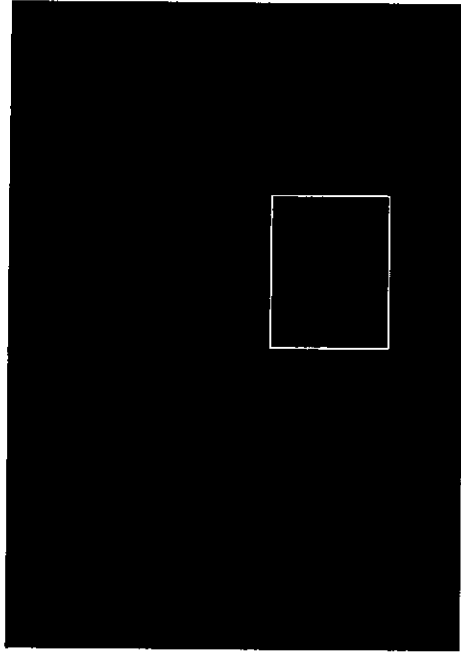
Gene Name	Localization	1st Principal Component		2nd Principal Component		Onset		Colony#	
		r_s	p	r_s	p	r_s	p	r_s	p
CPC1	Soluble Protein	0.824	0.000	0.737	0.000	-0.493	0.008	0.438	0.015
CPC2	Soluble Protein	0.784	0.000	0.746	0.000	-0.542	0.002	0.415	0.022
CPC3	Membrane Protein	0.760	0.000	0.440	0.015	-0.633	0.000	0.645	0.000
CPC4	Membrane Protein	0.760	0.000	0.639	0.000	-0.486	0.006	0.420	0.021
CPC5	Membrane Protein	0.757	0.000	0.466	0.009	-0.686	0.000	0.688	0.000
CPC6	Membrane Protein	-0.720	0.000	-0.524	0.003	0.677	0.000	-0.591	0.001
CPC7	Membrane Protein	0.659	0.000	0.128	0.500	-0.492	0.006	0.600	0.000
CPC2	Soluble Protein	0.652	0.000	0.380	0.038	-0.804	0.000	0.767	0.000
CPC8	Membrane Protein	-0.625	0.000	-0.459	0.011	0.418	0.022	-0.382	0.037
CPC9	Soluble Protein	-0.590	0.001	-0.310	0.095	0.503	0.005	-0.516	0.003
CPC10	Soluble Protein	0.566	0.001	0.234	0.214	-0.615	0.000	0.646	0.000
CPC11	Soluble Protein	0.565	0.001	0.428	0.018	-0.631	0.000	0.586	0.001
CPC12	Membrane Protein	0.556	0.001	0.416	0.022	-0.398	0.029	0.417	0.022
CPC13	Membrane Protein	0.540	0.002	0.305	0.101	-0.430	0.018	0.432	0.017
CPC13	Membrane Protein	0.539	0.002	0.176	0.352	-0.586	0.001	0.682	0.000
CPC14	Soluble Protein	0.537	0.002	0.243	0.195	-0.467	0.009	0.501	0.005
CPC15	Membrane Protein	0.485	0.007	0.001	0.995	-0.673	0.000	0.781	0.000
CPC16	Membrane Protein	0.469	0.009	-0.119	0.532	-0.474	0.008	0.640	0.000
CPC17	Not Predicted	-0.456	0.011	-0.050	0.792	0.767	0.000	-0.831	0.000
CPC18	Membrane Protein	0.453	0.012	-0.063	0.739	-0.369	0.045	0.548	0.002
CPC19	Not Predicted	-0.440	0.015	-0.107	0.575	0.643	0.000	-0.712	0.000
CPC20	Soluble Protein	-0.426	0.019	0.004	0.985	0.421	0.020	-0.540	0.002
CPC21	Membrane Protein	0.397	0.030	-0.020	0.915	-0.581	0.001	0.683	0.000
CPC22	Soluble Protein	-0.392	0.032	-0.284	0.128	0.525	0.003	-0.458	0.011
CPC23	Soluble Protein	-0.392	0.032	0.109	0.566	0.698	0.000	-0.822	0.000
CPC24	Soluble Protein	-0.386	0.035	0.141	0.456	0.462	0.010	-0.603	0.000

分化誘導前の発現量と誘導後の心筋細胞分化の程度に有意な相関の認められたP19由来細胞株中の「心筋細胞分化予測マーカー」候補遺伝子。心筋細胞分化は、分化誘導後の「心筋細胞マーカー遺伝子」の発現の第1主成分、自動能出現までの日数、自動能を有する細胞コロニー数により評価した。黄色は第2主成分とも有意な相関の認められた遺伝子。

r_s : スピアマンの順位相関係数、p: スピアマンの順位相関係数のp-値



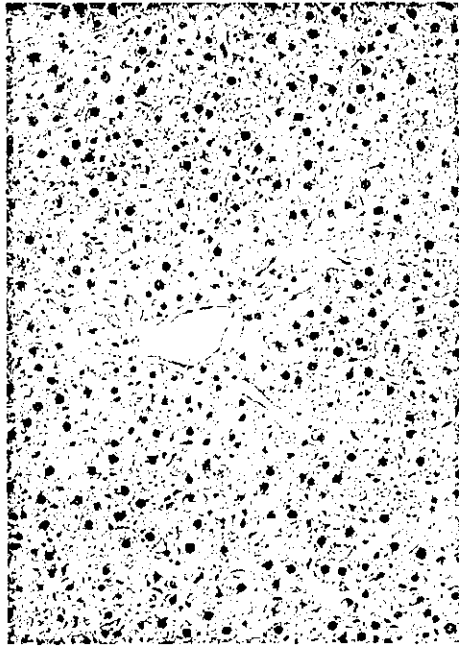
中心静脈域



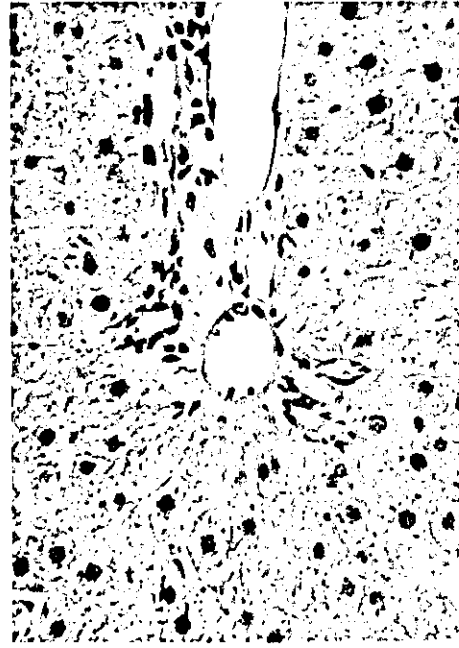
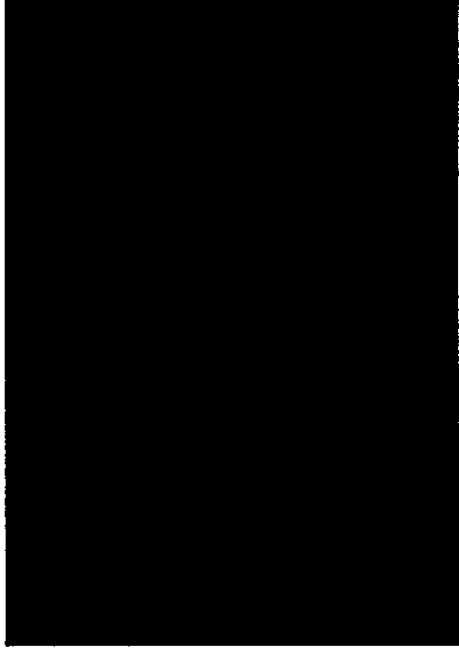
門脈域



図55. vehicleを投与したラット肝臓におけるH&E染色と免疫蛍光によるAnxA3およびアルブミンの局在
左図:H&E染色、右図:免疫蛍光 AnxA3(緑)、アルブミン(赤)(倍率×200)



中心静脈域



門脈域

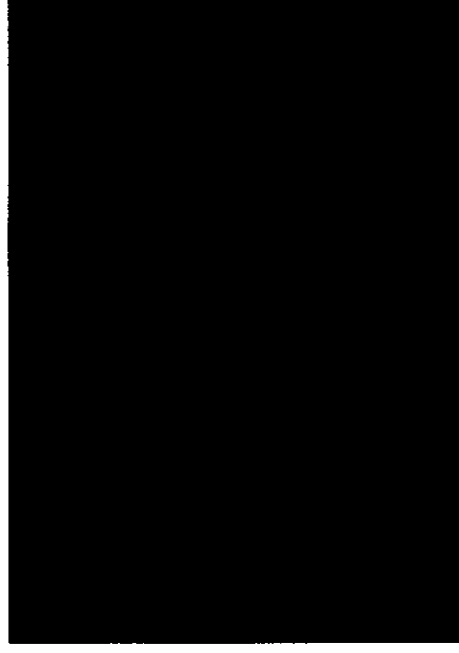


図56. 2-AAFを投与したラット肝臓におけるH&E染色と免疫蛍光によるAnxA3およびアルブミンの局在

左図: H&E染色、右図: 免疫蛍光 AnxA3(緑)、アルブミン(赤) (倍率×200)

中心静脈域

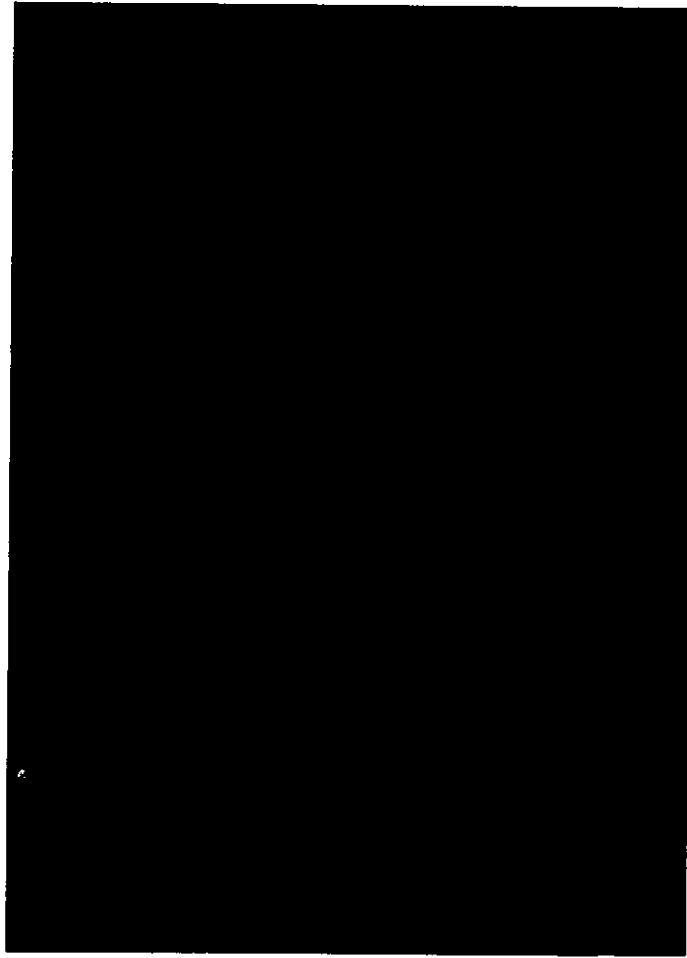
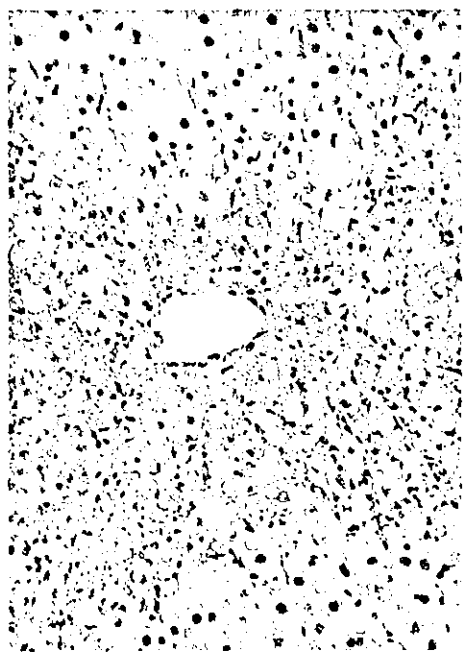
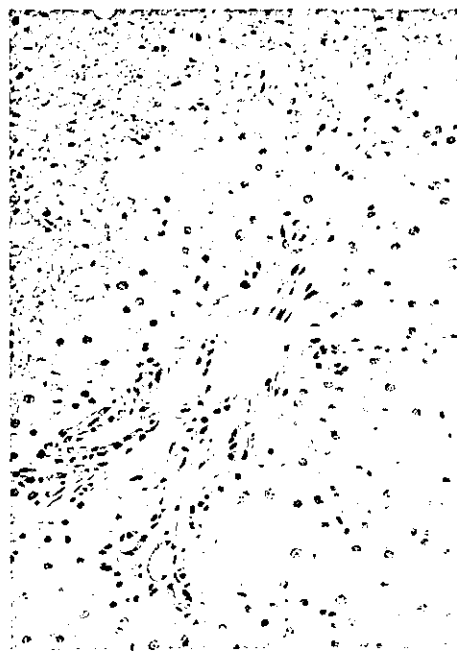


図57. vehicleを投与したラット肝臓における
免疫蛍光によるAnxA3およびアルブミンの局在
免疫蛍光 AnxA3(緑)、アルブミン(赤)(倍率×1,000)



中心静脈域

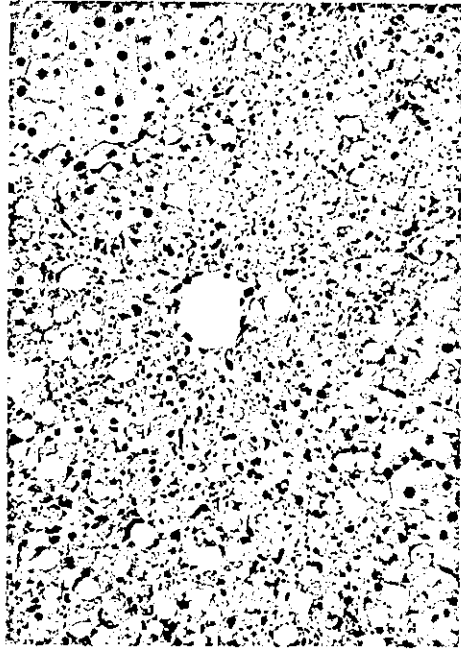


門脈域

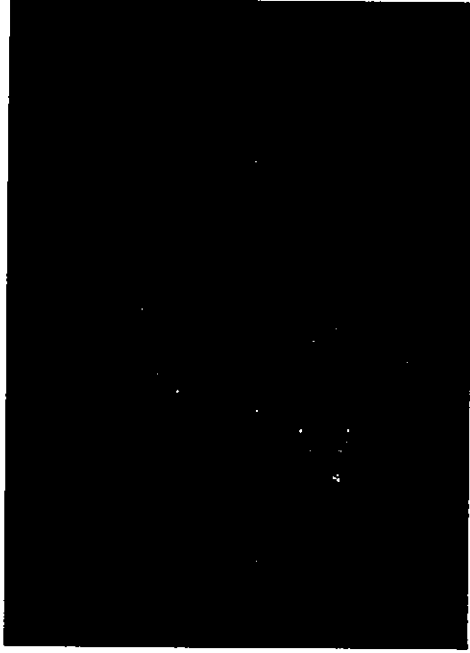


図58. 2-AAF/CCl₄投与2日目のラット肝臓におけるH&E染色と免疫蛍光によるAnxA3およびアルブミンの局在

左図:H&E染色、右図:免疫蛍光 AnxA3(緑)、アルブミン(赤)(倍率×200)



中心静脈域

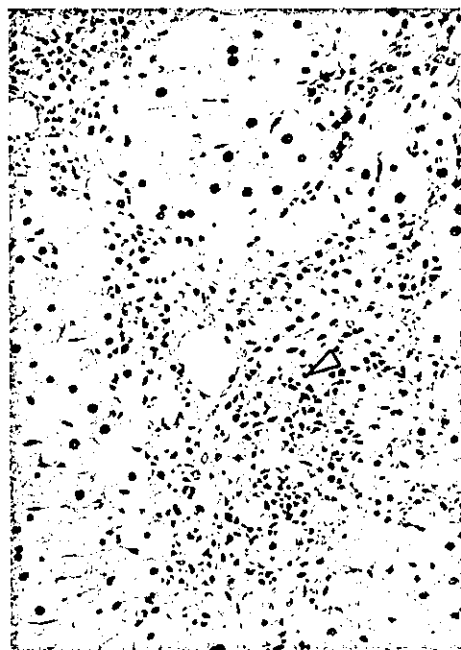


門脈域

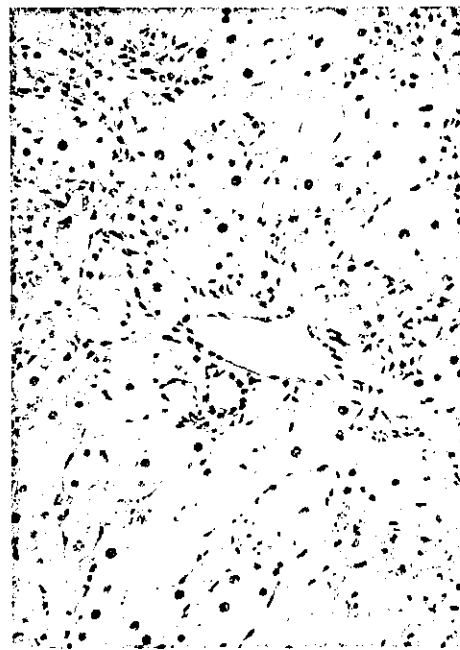
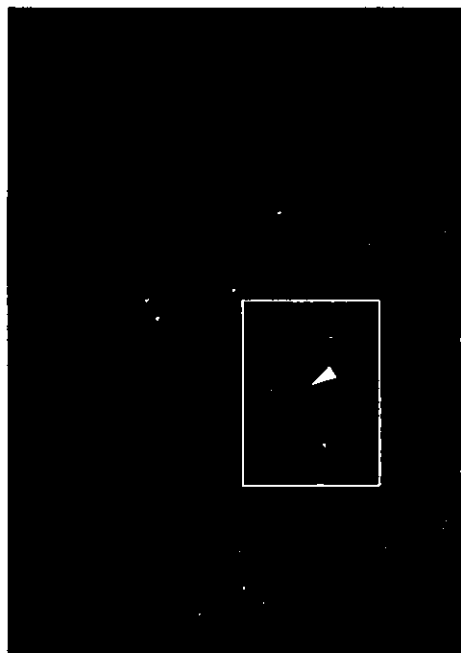


図59. 2-AAF/CCl₄投与3日目のラット肝臓におけるH&E染色と免疫蛍光によるAnxA3及びアルブミンの局在

左図: H&E染色、右図: 免疫蛍光 AnxA3(緑)、アルブミン(赤) (倍率×200)



中心静脈域



門脈域



図60. 2-AAF/CCl₄投与4日目のラット肝臓におけるH&E染色と免疫蛍光によるAnxA3およびアルブミンの局在

左図: H&E染色、右図: 免疫蛍光 AnxA3(緑)、アルブミン(赤) (倍率×200)

中心静脈域



図61. 2-AAF/CCl₄投与4日目のラット肝臓における
免疫蛍光によるAnxA3およびアルブミンの局在
免疫蛍光 AnxA3(緑)、アルブミン(赤)(倍率×1,000)

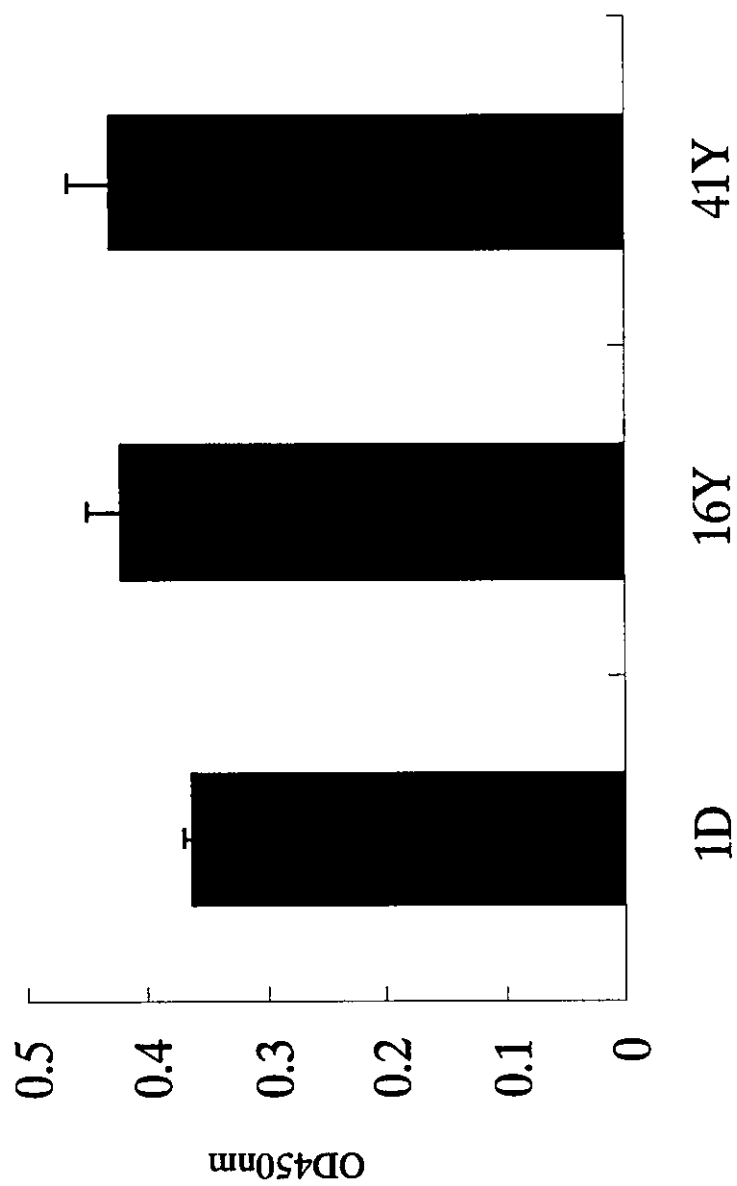


図62. 年齢の異なるヒト骨芽細胞の増殖性

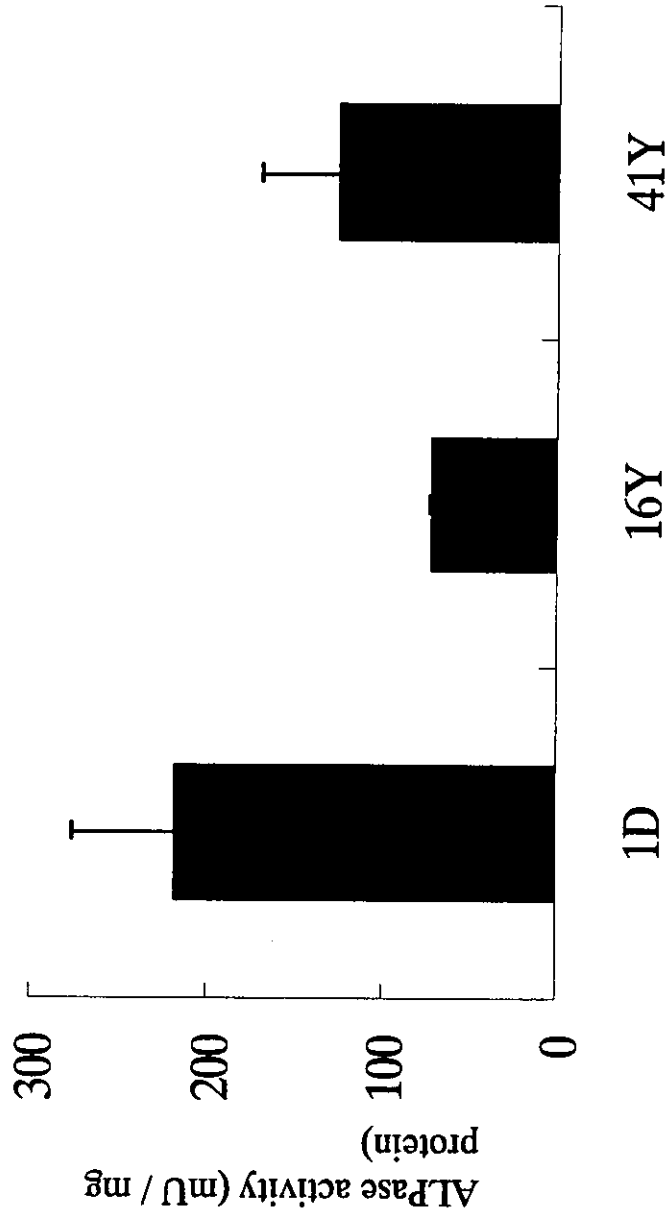


図 63. 年齢の異なるヒト骨芽細胞のALPase活性の違い

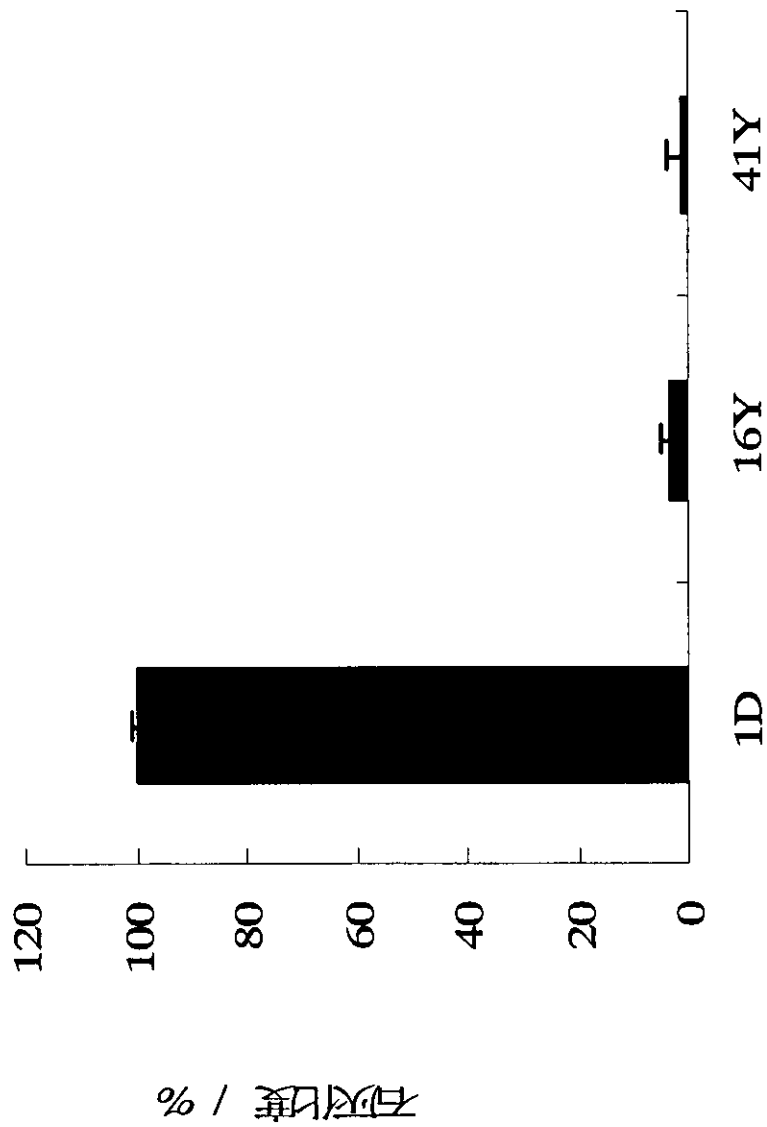


図64. 年齢の異なるヒト骨芽細胞の石灰化度の違い

図65 遺伝子発現データのクラスタリング解析

