

論文の内容の要旨

氏名：遠 山 一 人

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：心膜脂肪由来脱分化脂肪細胞（DFAT）の心筋分化能の検討

【目的】

心筋再生治療の細胞資源として、骨髄由来幹細胞や人工多能性幹細胞などが研究されているが、それぞれ心筋への分化誘導効率が低いこと、がん化の可能性などの問題があり、これらを解決する研究が進められている。成熟脂肪細胞から、脱分化脂肪細胞(dedifferentiated fat cell：DFAT)を調製する技術が開発され、この細胞群は高い増殖能と多分化能を有することが明らかにされている。脂肪細胞はその局在部位により、機能が異なることが知られ、DFAT の分化指向性も脂肪組織の局在部位により異なることが示唆される。本研究では、ブタの心外膜下脂肪組織、及び皮下脂肪組織からそれぞれ脂肪細胞を単離し、DFAT を調製した。そして心外膜下脂肪由来 DFAT (epicardial fat-derived DFAT：EC-DFAT)、および皮下脂肪由来 DFAT (subcutaneous fat-derived DFAT：SC-DFAT)の心筋への分化指向性を *in vitro* で比較検討した。

【方法】

ブタの皮下脂肪組織および心外膜下脂肪組織より SC-DFAT と EC-DFAT を調製し、脂肪、骨、軟骨、平滑筋へ分化誘導実験を行った。また、心筋細胞への分化については、EC-DFAT および SC-DFAT をラット心筋細胞とともに共培養を行い、リアルタイム RT-PCR 法、免疫細胞染色法を用いて心筋細胞分化マーカーの発現を検討した。

【結果】

SC-DFAT、EC-DFAT 共に脂肪、骨、軟骨、平滑筋への多分化能を有することが確認された。また、EC-DFAT は SC-DFAT に比べ、心筋初期分化マーカーGATA4 の発現が高く、脂肪初期分化マーカーPPAR γ や軟骨初期分化マーカーSOX9 の発現は低いことが明らかとなった。心筋特異的転写因子 Nkx2.5 に対する免疫染色では、EC-DFAT の一部に核に一致して Nkx2.5 を発現している細胞が認められた。心筋のギャップ結合タンパク質コネキシン 43 に対する免疫染色では、EC-DFAT 間の細胞境界領域または、EC-DFAT とラット心筋細胞との細胞境界領域にコネキシン 43 が顆粒状に発現している所見が認められた。心筋特異的収縮蛋白質トロポニン I に対する免疫染色では、EC-DFAT の一部にトロポニン I 陽性の横紋構造を示す細胞が認められた。また EC-DFAT では、共培養3日目頃より隣接するラット心筋細胞と同期して自律的拍動する所見がしばしば観察された。一方、SC-DFAT では、Nkx2.5 発現細胞や、自律的拍動所見はまれにしか観察されなかった。

【結語】

EC-DFAT は形質的、機能的に心筋細胞分化し、心筋への分化指向性は SC-DFAT より高いことが明らかになった。EC-DFAT は心筋再生の細胞資源として有用である可能性が示唆された。