

論文の内容の要旨

氏名：澤田浩克

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：ヒト脱分化脂肪細胞および間葉系幹細胞における骨分化・再生能の比較検討

【背景】 高齢者の増加に伴い、骨粗鬆症性骨折が増加している。骨粗鬆症性骨折の特徴として若年者より骨癒合に時間を要することが挙げられる。骨折治癒を促進させるための治療戦略として細胞を用いた再生医療が注目されている。骨疾患に対する再生医療には高い骨分化能を有する骨髄間葉系幹細胞(bone marrow mesenchymal stem cell: BM-MSC)や脂肪組織由来幹細胞(adipose-derived stromal cell: ASC)が細胞源として注目され、これらの細胞を用いた臨床研究も開始されている。成熟脂肪細胞から調製される脱分化脂肪細胞 (dedifferentiated fat cell : DFAT) は BM-MSC や ASC に類似した特性を示し、骨再生能や骨密度増加作用を有することが報告されている。骨髄中にも脂肪細胞が存在し、皮下脂肪組織と同様に DFAT を調製することが可能である。しかし DFAT が BM-MSC や ASC と同等の骨分化能・再生能を有するか明らかになっていない。また皮下脂肪由来 DFAT (SC-DFAT) と骨髄脂肪由来 DFAT (BM-DFAT) の骨分化能に差異があるか明確ではない。

【目的】 同一ヒト由来の BM-DFAT, SC-DFAT, BM-MSC, ASC を調製し、これらの細胞の骨分化能を *in vitro* で明らかにする。さらに免疫不全マウス大腿骨骨折モデルの骨折部位にこれらの細胞を移植し、骨再生能の差異を *in vivo* で明らかにする。

【方法】 人工膝関節置換術を受ける患者より事前の同意を得た上で、同一ドナーに由来するヒト BM-DFAT、SC-DFAT、BM-MSC、ASC を調製した。これらの細胞を骨分化誘導培地にて 3 週間培養した後、Alizarin Red S 染色を行い、カルシウムの沈着を顕微鏡で観察した。また 8 週齢雄の免疫不全(SCID)マウスに大腿骨横骨折を作成し、骨折間隙に BM-DFAT, SC-DFAT, BM-MSC, ASC 1×10^5 個をペプチド水ゲル (PHG) と混合し骨折部に注入した。BM-DFAT 群、SC-DFAT 群、BM-MSC 群、ASC 群、各群 $n=10$ 、また PHG のみを注入するマウスを Control 群 $n=10$ とした。4 週間後に両側大腿骨を摘出し、Micro CT にて骨構造解析を行い推定骨量 BV(左大腿骨量・右大腿骨量)(BV(Lt-Rt))・骨密度 (BMD) を測定し 5 群間で比較検討した。

【結果】 *In vitro* における骨分化誘導実験では、BM-DFAT, BM-MSC は SC-DFAT, ASC に比べ高い骨分化能を示した。骨折モデルマウスに対する移植実験では、各群すべてのマウスで骨癒合が認められた。Micro CT による解析の結果、BM-DFAT 群と BM-MSC 群では Control 群に比較し骨皮質が厚くなる傾向があり、また海綿骨も密になる傾向を認めた。骨折部の BV(Lt-Rt)において BM-MSC 群は Control 群に比べ有意に低値を示した。骨折部の BMD は BM-DFAT 群と BM-MSC 群は Control 群に比べ有意に高値を示した。

【結論】 BM-DFAT は BM-MSC と類似した骨分化能と骨折治癒促進作用を認めた。BM-DFAT は特に高齢者における骨折治癒促進を目的とする細胞治療の細胞ソースとして有用である可能性が示された。