

論文審査の結果の要旨

氏名：富 塚 孔 明

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：脱分化脂肪細胞(DFAT)に由来するエクソソームの解析と椎間板髄核細胞に対する作用

審査委員：(主 査) 教授 高 橋 悟
(副 査) 教授 相 澤 信 教授 山 上 聡
教授 長 岡 正 宏

論文「脱分化脂肪細胞(DFAT)に由来するエクソソームの解析と椎間板髄核細胞に対する作用」は、ヒト皮下脂肪から作成した脱分化脂肪細胞(DFAT)と脂肪細胞由来幹細胞(ASC)の培養上清から得たエクソソームの形態、内蔵する microRNA の発現ならびに機能解析を行い、ウサギ椎間板髄核細胞(NP cell)に対するエクソソームの増殖促進作用ならびに各種遺伝子発現誘導を *in vitro* で検討したものである。

腰痛症の一原因である椎間板変性症は髄核細胞の不可逆的变化を伴い、現在根本的治療法は存在しない。一方近年、種々の細胞から分泌される細胞外小胞エクソソームが、細胞間コミュニケーションに重要な役割を果たしていることが明らかになった。そこで日大整形外科での手術で採取されたヒト皮下脂肪組織から得た DFAT と ASC からポリマー沈殿法を用いて、エクソソームを抽出した。電子顕微鏡にて両者の培養上清に直径 100-150nm のエクソソームを確認した。ついで total RNA を抽出し、miRNA マイクロアレイ法にて網羅的 miRNA 遺伝子発現解析を行った。その結果、DFAT, ASC 由来エクソソームには多くの miRNA が存在し、DFAT に特異的に高発現する 37 の miRNA を同定した。その中には髄核細胞外基質産生を亢進させる miRNA-93-5p が含まれていた。次に、蛍光標識したエクソソームが培養ウサギ NP cell に高率に取り込まれ、NP cell 増殖促進作用を有することを確認した。またその際、NP cell 内で Collagen type II, Aggrecan 発現に関与する転写因子 Sox9 と椎間板細胞外基質を構成する Versican, Collagen type I の発現の増加を観察した。エクソソームは DFAT, ASC 細胞に比較して生体内半減期が長く、免疫原性が低い利点を有することから、DFAT, ASC 由来エクソソームを用いた椎間板変性症の新規治療法の可能性が示された。

よって本論文は、博士（医学）の学位を授与されるに値するものと認める。

以 上

平成 29 年 2 月 22 日