

論文の内容の要旨

氏名：谷 本 浩 二

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：膝蓋下脂肪体に由来する脱分化脂肪細胞の形質および機能解析

【目的】膝蓋下脂肪体（Infrapatellar fat pad：IFP）に由来する間葉系幹細胞（Mesenchymal stem cell：MSC）は良好な軟骨分化能を示すことが報告されている。脱分化脂肪細胞（Dedifferentiated fat cell：DFAT）は皮下脂肪組織から単離した成熟脂肪細胞を天井培養することにより調製される MSC に類似した多分化能を有する細胞である。本研究では同一ドナーに由来する皮下脂肪と IFP からそれぞれ DFAT を調製し、両者の形質解析および機能解析を行った。

【方法】人工膝関節置換術を受ける患者より皮下脂肪および IFP の提供を受け、皮下脂肪由来 DFAT（SC-DFAT）と IFP 由来 DFAT（IFP-DFAT）を調製した。形質解析として、フローサイトメトリーによる MSC マーカーの解析、WST-1 アッセイによる細胞増殖能の評価を行った。機能解析として *in vitro* 多分化能を評価した。脂肪分化能は、脂肪分化誘導 14 日後に Oil red O 染色強度を測定するとともに、脂肪分化マーカーの mRNA 発現量を定量した。骨分化能は、骨分化誘導 14 日後に Alizarin red S 染色強度を測定した。軟骨分化能は、Pellet 培養 21 日後に誘導された軟骨様細胞塊の重量測定、組織学的検討を行うとともに、軟骨分化マーカーの mRNA 発現を評価した。

【結果】IFP から単離した脂肪細胞の天井培養過程における細胞の形態変化は、SC-DFAT と明らかな違いはなかった。また IFP-DFAT は SC-DFAT と同様に MSC の Minimal criteria に合致する細胞表面抗原発現プロファイルを示した。細胞増殖能の比較では、IFP-DFAT は SC-DFAT に比べ培養 7 日後に有意な細胞数の増加が認められた。脂肪分化能の比較では、両細胞は同等の Oil red O 染色強度を示し、脂肪分化

マーカー遺伝子の発現に明らかな差異は認められなかった。骨分化能の比較では両細胞は同程度の石灰沈着を示した。軟骨分化能の比較では、両細胞とも軟骨様細胞塊の形成が認められ、その重量に有意差はなかったが、SC-DFAT に比べ IFP-DFAT から誘導した軟骨様細胞塊の方が、軟骨基質やプロテオグリカンの発現が強い傾向にあった。

【結論】IFP-DFAT、SC-DFAT は共に多分化能を示し、IFP-DFAT は SC-DFAT に比べ、高い細胞増殖能と良好な軟骨分化能を示すことが明らかになった。IFP-DFAT は軟骨再生に用いる治療用細胞として有望であると考えられた。