

## 論文の内容の要旨

氏名：遠藤 則行

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：脱分化脂肪細胞を用いた変形性膝関節症に対する細胞治療

〈背景〉近年、変形性膝関節症（Osteoarthritis of the knee : OA）に対して間葉系幹細胞（Mesenchymal stem cell : MSC）の関節内注射が行われ、一定の有効性が認められている。成熟脂肪細胞を天井培養することによって得られる脱分化脂肪細胞（Dedifferentiated fat cell : DFAT）は、高い増殖能と MSC に類似した多分化能を有する人工誘導性多能性細胞であり、OA に対する新たな治療用細胞として期待できるが、DFAT の軟骨保護作用や OA に対する治療効果は明らかになっていない。

〈目的〉膝前十字靭帯切離（ACLT）と内側半月板切除（MMx）によるラット OA モデルを作製し、DFAT 関節内投与による有効性の検討を行った。また OA 患者から DFAT を調製し、軟骨変性に影響する遺伝子群の発現解析や、滑膜線維芽細胞との共培養実験を行い、OA に対する治療用細胞としての特性評価を行った。

〈方法〉10~12 週齢の Wistar ラット（雄性）に ACLT+MMx 処理を行い、経時的に膝関節軟骨の変性を観察した。次に ACLT+MMx 処置 1 週間後にラット DFAT (DFAT 群) または PBS (Control 群) を 1 週間毎に 4 回関節内投与した（各群 n=10）。処置 5 週間後に、両群の膝関節軟骨の変性を肉眼的および組織学的に評価した。軟骨変性の程度は Mankin' s score および OARSI score を用いて定量評価した。

また OA 患者 (n=3) の皮下脂肪組織と膝蓋下脂肪体から DFAT を調製し、両細胞を TNF- $\alpha$  や IFN- $\gamma$  で刺激し、抗炎症・免疫制御に関与する遺伝子群（*PTGS2*、*TNFAIP6*、*PRG4*、*BMP2*、*BMP6*）の発現をリアルタイム RT-PCR 法にて定量評価した。また両細胞と TNF- $\alpha$  刺激した培養滑膜線維芽細胞との間接的共培養を行い、滑膜線維芽細胞から放出される軟骨基質分解酵素（*ADAMTS4*）の発現をリアルタイム RT-PCR 法により定量評価した。

〈結果〉ACLT+MMx 処置後 5 週で軟骨の消失を伴う明瞭な OA 変化が不可逆的に認められた。関節内投与 DFAT 群では、軟骨裂隙はほとんど認められず、軟骨組織も比較的保たれた。大腿骨および脛骨の Mankin' s score と大腿骨の OARSI score は Control 群よりも DFAT 群において有意に低かった。

遺伝子群の発現では、DFAT は定常状態において *PRG4* や *BMP6* を発現し、また炎症性サイトカイン刺激により *PTGS2*、*TNFAIP6*、*BMP2* の発現が増加した。また、滑膜線維芽細胞との共培養により、滑膜線維芽細胞からの *ADAMTS4* の発現を抑制した。

〈結論〉ラット OA モデルに対する DFAT 関節内投与は軟骨変性を抑制する効果を示した。DFAT は免疫制御作用、抗炎症作用および軟骨保護作用を示す液性因子を発現し、滑膜線維芽細胞からの軟骨基質分解酵素の発現を抑制することが明らかになった。DFAT は OA に対する新たな治療用細胞として有望であると考えられる。