

論文の内容の要旨

氏名：結 城 百合子

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：間葉系幹細胞株 C3H10T1/2 由来成熟脂肪細胞を利用した脱分化脂肪細胞株の樹立

脱分化脂肪細胞（Dedifferentiated fat cell : DFAT）は、生体脂肪組織由来の成熟脂肪細胞を単離させ天井培養と呼ばれる方法で培養することにより脱分化させた細胞であり、多彩な細胞への分化誘導能を有することから再生医療への応用が期待されている。しかし DFAT の脱分化ならびに分化誘導の分子生物学的メカニズムについては不明な点が多い。DFAT についての基礎研究を進めるにあたり、ヒト DFAT 作製には生体から脂肪組織を採取する必要がある、またマウスの脂肪組織は DFAT 化効率が低い等の問題点がある。そこで本研究では、マウス由来間葉系幹細胞株 C3H10T1/2 の DFAT 研究における細胞モデルとしての有用性を検討した。C3H10T1/2 細胞を脂肪分化誘導して作製した成熟脂肪細胞が多分化系統を示すかを解析し、C3H10T1/2 細胞株が生体由来細胞と同様に DFAT 研究に応用できる材料になり得るかを評価した。

実験方法の概要として、C3H10T1/2 細胞を成熟脂肪細胞に分化誘導させた後、細胞を回収して培地で満たした培養フラスコに移して天井培養を行った。天井培養開始後 2 日目に、フラスコ上面の天井部分に脂肪細胞の付着を認めたため、培地交換し天地を戻した状態で培養を継続した。その後、フラスコに付着した細胞が、脂肪滴を含む成熟脂肪細胞の形態から生体脂肪組織由来 DFAT と類似した線維芽細胞様形態に変化して、増殖するのを観察した。天井培養開始後 10 日目に、その DFAT 様細胞を継代して培養継続した。その後脂肪・骨芽・軟骨細胞への分化誘導を行った結果、DFAT 様細胞はこれら 3 系統いずれの細胞に分化した。また他の未分化細胞混入による影響を排除する目的で、C3H10T1/2 細胞から成熟脂肪細胞に分化させた細胞を 1 つずつ単離して作製したクローンについても、約 40% の確率で脱分化ならびに脂肪細胞や骨芽細胞への分化誘導が可能であった。またクローンにより、分化の程度には相違が見られた。

今回得られた C3H10T1/2 細胞由来の DFAT 様細胞について、今後脂肪・骨芽・軟骨細胞以外の他系統細胞への分化能についても検討し、脱分化ならびに分化誘導の分子生物学的メカニズムの更なる解析を進める予定である。本研究で確立した C3H10T1/2 細胞を用いた DFAT 実験モデルは、DFAT 基礎研究に有用であり、脱分化ならびに分化誘導の分子メカニズムの解明に役立つことが期待される。