

脂肪幹細胞における細胞外カルシウムによる骨形成 の検討

矢内, 理沙

<https://hdl.handle.net/2324/1500616>

出版情報：九州大学, 2014, 博士（歯学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

氏 名	矢内 理沙			
論 文 名	脂肪幹細胞における細胞外カルシウムによる骨形成の検討			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	平田 雅人
	副 査	九州大学	教授	久木田 敏夫
	副 査	九州大学	教授	樋口 勝規

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

脂肪由来間葉系幹細胞(ASC)は、骨髄由来のものと比較して採取方法が簡便で、かつ組織中に含まれる幹細胞の量が多いため、臨床応用に適していると考えられる。ASCを骨形成への分化に向かわせる因子として、骨のリモデリングに関わることが知られている骨形成因子(BMP-2)は有力な候補と考えられる。しかし、BMP-2は破骨細胞形成を促すという報告もあり、ヒト由来ASC(hASC)に対してBMP-2を使用することに躊躇する向きもある。リコンビナントBMP-2(rBMP-2)は大量生産が困難で、また生産コストが高価であることから臨床応用は限定的である。我々は以前の研究で、Ca²⁺刺激により線維芽細胞でBMP-2が産生されることを示した。これらの先行結果を踏まえて、本研究ではhASCにおけるリコンビナントヒトBMP-2(rhBMP-2)の影響、および細胞外Ca²⁺の影響を検討して、hASCを用いた骨再生の可能性について探った。

hASCは腹部採皮術を受けた患者から得た余剰皮下脂肪組織を酵素処理して分離した。rhBMP-2の影響は骨分化誘導培地にrhBMP-2を種々の濃度で加えて比較検討した。hASCの骨形成分化の評価はAlizarin red S染色、von Kossa染色、アルカリホスファターゼ(ALP)発現、骨形成関連蛋白mRNAと蛋白の発現をリアルタイムPCR、Western blotting法などを駆使して行った。その結果、hASCはrhBMP-2(≤100 nM)により濃度依存的に骨形成を促進するように分化した。次にhASCに対する細胞外Ca²⁺刺激の影響について検討した。細胞外Ca²⁺濃度を0.3 mM、1.8 mM、5.0 mMとしALP活性、BMP-2 mRNAおよび蛋白の発現を比較分析した。ALP活性、BMP-2発現ともにCa²⁺(≤5.0 mM)の濃度依存的に増大した。さらに、細胞外Ca²⁺刺激はBMPレセプター2(BMPR2)の発現も増やすことが示された。次いで細胞外Ca²⁺誘発性BMP-2およびBMPR2発現のメカニズムについて検討した。細胞外Ca²⁺濃度を上昇させると細胞内Ca²⁺が一過性および持続性の増加を示し、細胞質中のリン酸化NFAT2を脱リン酸化させ核内へと移行させた。またcalmodulin阻害剤、W-7を作用させるとCa²⁺刺激を加えてもBMP-2発現は増加しなかった。

以上の結果は、hASCでは細胞外Ca²⁺刺激によってcalmodulin/NFAT経路を介してBMP-2およびBMPR2の産生が亢進し、骨芽細胞への分化が誘導されることを示したもので、博士(歯学)の学位授与に値する。