

論文審査の要旨(甲)

申請者領域・分野 氏名	機能再建再生科学領域 脊椎脊髄病態修復学教育研究分野 氏名 原田 義史
指導教授氏名	石橋 恭之
論文審査担当者	主 査 大山 力 副 査 木村 博人 副 査 黒瀬 顕
(論文題目) Osteogenic lineage commitment of mesenchymal stem cells from patients with ossification of the posterior longitudinal ligament (脊椎後縦靭帯骨化症患者由来間葉系幹細胞の骨化傾向)	
<p>間葉系幹細胞(MSCs)は骨・脂肪・軟骨や靭帯に分化する能力を有する幹細胞であるが、異所性骨化の責任細胞としても注目されている。申請者の研究グループは脊柱靭帯から間葉系幹細胞を分離・同定し、脊柱靭帯および骨化部における MSCs の局在を報告してきた。本研究では、MSCs 自体が脊柱靭帯骨化の責任細胞であるとの仮説を証明するために、MSCs の骨分化能について検討した。</p> <p>脊柱靭帯骨化症患者8例(骨化症群)および頸椎症性脊髄症患者8例(対照群)から採取した黄色靭帯からMSCsを単離した。CD34(-)、CD105(+)細胞をソーティングし、実験に用いた。得られた細胞を骨・脂肪・軟骨誘導培地で培養し、それぞれへの分化能を骨化症群と対照群とで比較した。</p> <p>初代培養で得られた細胞は両群とも線維芽細胞様の形態を呈した。Alizarin Red S 染色の吸光度を計測すると、対照群 1.89 ± 0.93、骨化症群 13.1 ± 3.95 で骨化症群は有意に骨分化能が高かった。ALP 活性は誘導開始時には両群間に差を認めないが、通常培養 14 日と誘導培養 7 日および 14 日では骨化症群で有意に高値であった。脂肪分化誘導では、Oil Red O 染色で両群とも脂肪滴の形成を認め、その吸光度は対照群 0.30 ± 0.06、骨化症群 0.27 ± 0.07 で有意差を認めなかった。軟骨分化誘導では、両群間に有意差を認めなかった。骨分化関連遺伝子である BMP2 と ALP が誘導後 7 日において骨化症群で有意に高値であり、また Runx2 が誘導後 14 日と 21 日において骨化症群で有意に高値であった。脂肪分化関連遺伝子である PPARγ2 と LPL、軟骨分化関連遺伝子である Sox9、COL2A1、COL10A1 の発現には有意差を認めなかった。</p> <p>以上より、骨化症患者群由来 MSCs は骨分化能、ALP 活性、骨化関連遺伝子発現が高値であり、高い骨分化能を有することが明らかになった。このことは、MSCs 自体の骨分化能が脊柱靭帯骨化の病態に関与している可能性を示唆するものである。</p> <p>本研究は、脊柱靭帯脊硬化症患者由来の間葉系幹細胞が強い骨分化能を有することを初めて証明した点で高く評価される。よって学位授与に値する。</p>	
公表雑誌等名	Biochem Biophys Res Commun. 2014 Jan 17;443(3):1014-20.