

論 文 要 旨

区 分	①・乙	氏名	山口 雄一郎 
-----	-----	----	--

Mesenchymal stem cell spheroids exhibit enhanced *in-vitro* and *in-vivo* osteoregenerative potential

研究目的

間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cells : MSCs)は多分化能を有し、骨再生の研究および臨床において広く用いられている。3次元培養法で作製したSpheroid (細胞の凝集塊)は、生体内に近い細胞構築を持ち、2次元培養のMSCs (Monolayer MSCs)と比較して分化や相互間作用が亢進されるといわれている。そこで、MSCs Spheroidが持つ、骨への優れた分化誘導能を利用した生体内における骨再生効果促進を目的として研究を行った。

材料および方法

Monolayer MSCsとMSC spheroidsをosteoblast-inducer reagent (OIR)含有培地で1週間分化誘導した。MSC spheroidsにおける骨分化関連マーカーの増加を確認するため、real-time RT-PCRによるOsterix, Runx-2, Osteopontin, Bone sialoprotein, Alkaline phosphataseのmRNA発現と、免疫染色によるOsterixのタンパク発現を調べた。次に、骨芽細胞への分化を確認するためにALP染色とAlizarin Red染色を行った。さらに、分化誘導したSpheroidの生体内における骨再生効果を明らかにするために、直径5mmのラット頭蓋骨欠損部へMSC spheroidsの移植を行った。モデルは、欠損のみ、Matrigelのみを移植したコントロール群と、分化誘導したMonolayer MSCsまたはMSC spheroidsを移植した実験群の計4群を作成した。マイクロCT画像と組織切片標本(HE染色)によって新生骨形成の評価を行った。

結果および考察

real-time RT-PCR と免疫染色の両方で、MSC spheroids における骨分化関連マーカー発現の亢進が確認された。また AR 染色において Spheroids 群のみに染色像が認められ、MSC spheroids が骨基質形成を促したと考えられる。以上の結果から、MSC spheroids は Monolayer spheroids と比較して分化が促進されたと考えられる。ラット頭蓋骨に分化した MSC spheroids を移植した結果、他の群と比較して Spheroid 移植群で有意に高い新生骨形成がマイクロCTと切片標本の両方で確認された。欠損部に移植した Spheroid が新生骨形成を促進したと考えられる。

結論

MSC spheroids は、Monolayer MSCs と比較して分化能に優れており、生体内における頭蓋骨欠損部の新生骨形成を促進した。さらに、操作性の向上により欠損部への安定した細胞移植を可能とした。以上のことから、MSC spheroids が研究および臨床における、骨再生効果促進に対して有効であることが示唆された。