

論文内容の要旨

論文提出者	宮口 直之
論文題目	Bone Morphogenetic Protein-2 Accelerates Osteogenic Differentiation in Spheroid-Derived Mesenchymal Stem Cells
<p style="text-align: center;">背景</p> <p>間葉系幹細胞 (Mesenchymal stromal cells : MSC) は、多分化能と自己複製能を有し、骨再生において研究および臨床に広く用いられている。細胞の凝集塊であるスフェロイド培養は、平面培養と比べ <i>in vivo</i> での環境をより模倣しており、スフェロイド化MSCは分化を誘導する因子の影響を受けやすい。この研究では、骨形成タンパク (BMP) -2が、スフェロイド由来MSCにおいて骨形成分化の促進を誘導するかどうかを評価した。</p> <p style="text-align: center;">材料と方法</p> <p>MSCスフェロイドは、低接着性プレートを用いてヒト脂肪組織由来のMSCから作製した。単層およびスフェロイド由来MSCの骨形成分化は、BMP-2有りまたは無しの骨形成誘導培地 (OIM) によって誘導された。骨分化誘導能の評価と骨分化誘導時のBMP経路とWnt経路の関係を、アルカリホスファターゼ (ALP) 染色、アリザリンレッド (AR) 染色、リアルタイムRT-PCR法、Western Blotting (WB) 法、免疫蛍光細胞染色 (ICC) を用いて行った。</p> <p style="text-align: center;">結果</p> <p>単層MSCと比較して、OIMとBMP-2の混合物で処理されたスフェロイド由来MSCにおいて、ALPおよびAR染色の増加が観察された。スフェロイド由来MSCは、骨形成性のRunx2 (Runx2) およびオステリックス (OSX) のmRNAおよびタンパク質発現を増加させた。また、OSXの核内発現がOIMとBMP-2の混合物で処理したスフェロイド由来MSCにおいても観察された。さらに、BMP-2処理を施したスフェロイド由来MSCは、Smad5 のmRNAおよびリン酸化Smad1/5のタンパク質発現上昇を示し、Smad依存性BMPシグナル伝達経路が促進されたことが示唆された。一方、Wnt関連因子のβ-cateninのmRNAとタンパク質発現には単層MSCとの差はみられなかった。</p> <p style="text-align: center;">結論</p> <p>スフェロイド由来MSCは、BMP-2添加によりSmad依存性BMPシグナル伝達経路が活性化し、単層MSCと比較して骨形成分化を促進することを示した。</p>	