

Title	Equivalent osteoblastic differentiation function of human mesenchymal stem cells from rheumatoid arthritis in comparison with osteoarthritis
Author(s)	森本, 大樹
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49852
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	もりもと 森本大樹
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 22781 号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学位論文名	Equivalent osteoblastic differentiation function of human mesenchymal stem cells from rheumatoid arthritis in comparison with osteoarthritis (関節リウマチ由来のヒト間葉系幹細胞の骨芽細胞分化能は変形性関節症と比べて同等である)
論文審査委員	(主査) 教授 吉川 秀樹 (副査) 教授 大菌 恵一 教授 菅本 一臣

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

関節リウマチ(RA)で関節破壊、傍関節部の骨脆弱性が整形外科臨床で大きな問題となっている。RAでは骨組織内の骨吸収能と骨形成能の骨代謝バランスにおいて、骨吸収能亢進はこれまでも多くの報告がなされてきた。一方で関節リウマチにおける骨形成能については十分検討されていない。RAにおいて骨形成能が低下しているのか、亢進しているのか、変化していないのかは解明されていない。骨形成に重要な骨芽細胞はヒト骨髄間葉系幹細胞(hMSCs)から分化すると言われている。本研究ではRA患者から採取したhMSCsを変形性関節症(OA)患者由来のhMSCsと比較し分化刺激を加えて骨形成能を検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

OA、RA患者から手術時に全身麻酔下で骨髄細胞を採取した。対象は全例女性とした。検討した合計の症例はOA26例平均年齢73.2歳、RA20例平均年齢59.2歳であった。Colony forming assayのために、骨髄細胞を採取後、mononuclear cell を抽出し2週間培養し、クリスタルバイオレット染色陽性の総コロニー数と、ALP染色陽性コロニー数を計測した。

骨髄細胞を培地内で培養後、OA群、RA群の細胞集団に違いがあるかpassage1付着細胞の表面抗原をFlow cytometryで検討した。また、間葉系幹細胞の分化の各段階で検討するために

骨髄細胞を培地内で培養し、分化刺激を加えて検討することとした。

OA、RA両群でpassage2の細胞にbeta glycerophosphate(bGp)を加えたcontrol群と、bGp、ascorbic acid(AA)、dexamethasone(dex)を加えたdifferentiation群に分けて培養した。2週間培養後にALP染色、ALP活性を測定した。3週間培養後にAlizarin RedS染色施行して、吸光度を測定した。Passage2の付着細胞をbGp、AA、dexで2、3週間培養し、real time PCR法でALP、bonesialoprotein、collagen type2、osteocalcin、osteopontin、Runx2の遺伝子発現を検討した。

Flow cytometry では、両群で付着細胞表面抗原では差を認めなかった。Colony forming assayにおいて、OA、RA群においてクリスタルバイオレット陽性総コロニー数、ALP染色陽性コロニー数のいずれにおいても有意差を認めなかった。ALP活性、Alizarin red Sにおいてcontrol群、differentiation群のいずれにおいてもOA、RA両群で有意差を認めなかった。Real time PCR では2週間、3週間培養した細胞においても有意差は認めなかった。

〔 総 括 〕

ヒト間葉系幹細胞は前骨芽細胞、未熟骨芽細胞など各段階を経て成熟骨芽細胞へと分化していくと言われている。その分化過程で、アルカリフォスファターゼ(ALP)、type2コラーゲン(collagen type2)は早期の骨基質蛋白として骨形成を促進することが知られている。また成熟骨芽細胞へと分化していくにあたって、bone sialoprotein、osteocalcinなどの働きにより骨基質石灰化が促進されると考えられている。本研究では、ALP活性やALP、collagen type2の遺伝子発現でOA、RA患者由来のhMSCsで差を認めず、Ca沈着を評価したAlizarin Red S、Bone sialoproteinやosteocalcinの遺伝子発現において両群において差を認めなかった。

本研究で、RA由来とOA由来のhMSCsの骨芽細胞への分化能を各段階で比較検討した。

その結果からRA由来のhMSCsはOA由来と比較して骨芽細胞分化能が保たれていると考えられた。本研究の結果から将来において、RA患者においても自己の間葉系幹細胞を用いて骨再生など再生医療への応用が可能となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

骨代謝において骨形成と骨吸収のバランスが保たれていることが生体においては重要であることは広く知られている。関節リウマチにおいてこれまで破骨細胞を中心とした骨吸収亢進、全体として骨吸収が優位で関節破壊が進む病態についてはよく知られていたが、骨芽細胞を中心とした骨形成能についてはこれまでほとんど検討されてこなかった。

今論文では、関節リウマチ患者から得た骨髄血からヒト間葉系幹細胞を採取し骨芽細胞へ分化刺激を加え、変形性関節症患者から採取した細胞と骨芽細胞への分化能について比較検討を行った。その結果骨基質蛋白産生、石灰化という骨芽細胞分化の各段階において両群間において差を認めなかった。

この結果は、これまで十分に解明されていなかった関節リウマチの骨形成能について解明する知見の1つとなると考える。

以上の論文審査の結果から本論文の内容は博士(医学)の学位授与に値すると判断する。