



Title	Measurement of adiponectin production from differentiated metabolic stem cells
Author(s)	倉敷, 有紀子
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54123
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	倉 敷 有 紀 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 6 2 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 22 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Measurement of adiponectin production from differentiated metabolic stem cells (human metabolic stem cellを用いたアディポネクチン分泌促進薬のスクリーニング)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 下村伊一郎 (副査) 教 授 澤 芳樹 教 授 高原 史郎

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

近年、肥満は世界規模で増加しており、特に内臓脂肪の蓄積により高血圧、耐糖能障害、脂質異常症を合併し、心血管疾患発症の高リスク状態であるメタボリックシンドロームを呈する。脂肪組織は、アディポサイトカインと呼ばれる種々の内分泌因子を産生しており、その産生異常はメタボリックシンドロームの発症に深く関与している。アディポネクチンは代表的なアディポサイトカインであり、肥満により血中濃度が低下する。アディポネクチンは、糖代謝、脂質代謝の改善作用、抗炎症作用を有しており、血中アディポネクチン濃度は心血管疾患の発症と負に相関する。従って、血中アディポネクチン濃度の上昇作用を持つ薬剤や食物を探索することは、肥満に伴うメタボリックシンドロームの治療法として有用である。

本研究では、脂肪細胞に対する様々な薬剤反応性を in vitro で探索し、個人の薬剤反応性を予測するスクリーニング法の開発を目的として、患者脂肪組織から採取した前駆脂肪細胞 (Metabolic Stem Cells ; MSC) を用いた検討を行った。

〔 方 法 ならびに 成 績 〕

患者脂肪組織をコラゲナーゼ処理し、遠心、濾過を行い、MSC を単離した。MSC を 8 日間分化メディウムにて培養した後、維持メディウムを 48 時間毎に交換した。分化誘導条件を検討した結果、この方法で最も高い分化誘導効率を得た。MSC 由来脂肪細胞は分化誘導によって Oil red O 染色で染色される脂肪滴を蓄積し、分化マーカーである PPAR γ 、アディポネクチン、Glut4 の発現の上昇を認めた。

次に、当院にて外科手術を受けた患者の余剰組織から、MSC を採取できた症例を対象とし、以下の検討を行った。

MSC からの成熟脂肪細胞への分化は個々の症例で差を認めた。そこで脂肪細胞の分化度に 100%、40%、10-20%と差のある 3 症例を比較したところ、培養上清のアディポネクチン濃度は成熟分化脂肪細胞数に比例していた。しかしこの 3

症例のアディポネクチン濃度の経時的変化は、分化誘導後に上昇し、誘導終了後 48 時間 (day10) から漸減するパターンであり、差を認めなかった。

アディポネクチン分泌促進効果を持つ 2 種の PPAR γ アゴニスト (ビオグリタゾン、テルミサルタン) を分化後の脂肪細胞に添加した。先に述べた脂肪細胞の分化度に差のある 3 症例にビオグリタゾンを添加したところ、分化度にかかわらず、3 症例全てにおいて、分化終了後 48 時間以降も上清アディポネクチン濃度の漸減が完全に抑制された。テルミサルタンにおいては、上清アディポネクチン濃度の漸減は部分的であり、その程度は各症例により異なっていた。

個々の症例において脂肪細胞の分化度が異なるため、各症例で薬剤反応性を比較するための共通指標が必要と考えた。そこで、薬剤の反応前後のアディポネクチン濃度の比をアディポネクチン産生比率 (Adiponectin Production Ratio : APR) と定義し、以下の検討を行った。同一症例の、異なる部位 (皮下脂肪、前立腺周囲脂肪) から作成した MSC 由来脂肪細胞では、ビオグリタゾン、テルミサルタン、ベザフィブラート (PPAR α アゴニスト) の 3 種の薬剤に対する APR は差を認めなかった。大量の薬剤を同時にスクリーニングするために、同一症例から採取した MSC を 96well プレートに播種し分化誘導を行う系を確立した。この系を用いることで、16 種の薬剤に対する APR を測定し、薬剤反応性を比較することができた。

〔 総 括 〕

患者脂肪組織由来の MSC を採取し、成熟脂肪細胞へと分化誘導できることを明らかにした。分化誘導効率や MSC 採取部位が異なる状態でも、経時的に上清のアディポネクチン濃度を測定して APR を算出することで、アディポネクチン産性に対する薬剤の作用を比較することが可能であった。本手法を用いることにより個人由来の脂肪細胞に対する多数の薬剤の反応性を一度に評価することが可能となった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

アディポネクチンは脂肪細胞の分泌因子であり、肥満症例では血中アディポネクチン濃度が低下し、心血管疾患や代謝異常に関与する。従って、血中アディポネクチン濃度の上昇作用を持つ薬剤の探索は、肥満に伴う代謝異常の治療法として有用である。

本申請者は、手術患者の余剰脂肪組織から脂肪幹細胞 ; Metabolic Stem Cell (MSC) を単離した。MSCは分化誘導により脂肪滴の蓄積やPPAR γ などの遺伝子発現の上昇を認め、成熟脂肪細胞の特徴を持つことを明らかにした。また Adiponectin production ratioにより、MSC由来脂肪細胞数やMSC採取部位が異なる場合も、アディポネクチン産性に対する薬剤効果を判定できることを明らかにした。

本研究により、個人のアディポネクチン分泌促進作用を有する薬剤をin vitroで選択するスクリーニングが可能となり、メタボリックシンドロームの治療に寄与することが期待され、学位の授与に値すると考えられる。