

論文内容の要旨

論文提出者	(氏名) 今村 彩香
論文題目	Three-dimensional spheroids of mesenchymal stem/stromal cells promote osteogenesis by activating stemness and Wnt/ β -catenin
<p>(論文内容の要旨)</p> <p style="text-align: center;">【研究目的】</p> <p>間葉系幹細胞mesenchymal stem/stromal cell (MSC)は再生医療で広く使用されている多能性および自己再生能を有する細胞である。3Dスフェロイド培養は、2D平面培養と比較して生体内の微小環境をより正確に模倣するが、3Dスフェロイド形成中の細胞の運命制御と、これらの幹細胞の機能特性への影響の原因となる重要な分子やメカニズムは不明です。そこで本研究ではMSCを用いて骨分化誘導を行い、2D平面培養と3Dスフェロイド培養を比較して骨形成能を評価した。</p> <p style="text-align: center;">【材料および方法】</p> <p>マウスの骨髄由来間葉系幹細胞株(D1 ORL UVA)を、10%FBS添加D-MEM培地およびBone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2)を用いて、3Dスフェロイド培養手法を用い骨芽細胞へと分化させ、2D平面培養による細胞との骨分化能や骨基質形成能の違いをRT-qPCR法、Western blotting法を使用して比較検討した。また、in vivoにおいて加齢マウスの頭蓋骨に骨欠損を作成し2D平面培養と3Dスフェロイド培養したMSCを移植しmicro-CT法やHE染色法により新生骨形成能を評価した。</p> <p style="text-align: center;">【結果】</p> <p>MSCを用いた3Dスフェロイド培養は、2D平面培養と比較し、幹細胞マーカー(Nanog, OCT3/4)の発現が急激に促進された。さらに、骨分化誘導時には骨形成関連分子(ALP, Runx2, Osterix)の発現が3DスフェロイドMSCにおいて促進された。同時にWnt/β-catenin経路、及びその下流TAZ経路も活性化された。そこで、β-catenin欠損させたMSCを作成し骨分化誘導刺激を行った結果、β-catenin欠損細胞では骨分化誘導時の骨形成関連遺伝子の発現が抑制された。また、頭蓋骨欠損モデルマウスへの3DスフェロイドMSC移植は2D平面培養と比較して新生骨形成率が高く、逆にβ-catenin欠損させた3DスフェロイドMSC移植では新生骨形成がほとんど認められなかった。</p> <p style="text-align: center;">【考察および結論】</p> <p>以上の結果より、3Dスフェロイド形成における幹細胞マーカーの発現促進とWnt/β-catenin経路の活性化は骨形成の促進に関与することが示唆された。また、in vivo 3DスフェロイドMSCの移植は2D培養MSCと比べてより新生骨再生を促進すると考えられた。</p>	