

# A Novel Method to Apply Osteogenic Potential of Adipose Derived Stem Cells in Orthopaedic Surgery

著者	方 向
著者別表示	Fang Xiang
journal or publication title	博士論文要旨Abstract
学位授与番号	13301甲第4083号
学位名	博士（医学）
学位授与年月日	2014-06-30
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/42036">http://hdl.handle.net/2297/42036</a>

doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088874>



## 論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 第 2431 号 氏名 方 向

論文審査担当者 主査 川尻 秀一



副査 平尾 敦



横田 崇



### 学位請求論文

題 名 A Novel Method to Apply Osteogenic Potential of Adipose Derived Stem Cells in Orthopaedic Surgery

掲載雑誌名 PLoS ONE 第9巻第2号  
平成26年2月掲載

【背景】幹細胞シートは他の基質と混合する必要がなく、移植部位への接着、固定も容易であり、3次元培養も可能である。したがって、骨再生医療において、将来の臨床応用に適した手法の1つである。アスコルビン酸はコラーゲン合成に必須であり、分泌されたコラーゲンは幹細胞シートの細胞外基質となりうる。さらに、コラーゲンは間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化誘導を促進する。

【目的】脂肪由来幹細胞(ADSCs)を用いて、骨芽細胞へ分化誘導可能なセルシート(ADSCs シート)を作成すること。さらに、ADSCs シートが通常の ADSCs に比べて良好な骨芽細胞へ分化誘導を示すことを *in vitro* で確認すること。

【方法】ADSCs を life technologies Japan より購入した。1. ADSCs シートの作成: 三代目の ADSCs をシャーレの中でオーバーコンフルエントになるまで培養した。通常の ADSCs は、この状態で実験に使用した。ADSCs シートは、さらに通常培地+50  $\mu$ M L-ascorbic 酸で一週間培養して作成した。2. 骨芽細胞への分化誘導を通常の ADSCs と比較する: ADSCs シートと通常の ADSCs を誘導培地 (MEM- $\alpha$ +10mM グリセロール-2-リン酸、50  $\mu$ M L-ascorbic 酸、および 100nM デキサメタゾン) を用いて培養し、1、3、5、7、10、14 さらに 21 日目に ALP 染色および ALP 活性、Alizarin Red 染色を行い、骨芽細胞への分化誘導を評価した。

【結果】ALP 染色は、通常の ADSCs において平均 2 週間で陽性となったのに対し、ADSCs シートにおいては平均 5 日間で陽性となった。ALP 活性においても、すべての time point で ADSCs シートがより高い活性を示した。Alizarin Red 染色は、通常の ADSCs において平均 3 週間でカルシウム沈着がみられたのに対し、ADSCs シートにおいては平均 1 週間で Ca 沈着がみられた。

【結論】骨分化能を有する ADSCs シートを独自の方法で作成した。この ADSCs シートは作成しやすく安価であり、通常の脂肪由来幹細胞に比べて、より高い骨分化能を示した。したがって、この脂肪由来幹細胞セルシートは、骨再生の資源として有用である。

以上の結果から、本研究は整形外科領域の再生治療分野において重要であり、医学博士の学位に値すると判断した。