

Do Mesenchymal Stem Cells Derived From Atypical Lipomatous Tumors Have Greater Differentiation Potency Than Cells From Normal Adipose Tissues?

著者	稲谷 弘幸
著者別表示	Inatani Hiroyuki
journal or publication title	博士論文要旨Abstractおよび要約Outline
学位授与番号	13301甲第4499号
学位名	博士（医学）
学位授与年月日	2017-03-22
URL	http://hdl.handle.net/2297/00049318

doi: 10.1007/s11999-017-5259-z



論文の内容要旨

主論文題名

Do Mesenchymal Stem Cells Derived From Atypical Lipomatous Tumors Have Greater Differentiation Potency Than Cells From Normal Adipose Tissue?
Clinical Orthopaedics and Related Research 平成29年掲載予定

専攻部門 がん医科学専攻機能再建学
氏名 稲谷 弘幸
(主任教員 土屋弘行教授)

<背景>

間葉系幹細胞 (MSC) において p53 蛋白は骨芽細胞分化や脂肪細胞分化を抑制する。多くの悪性腫瘍において p53 機能は低下しているため、もし悪性腫瘍の中の MSC においても p53 機能が低下しているならば骨芽細胞分化や脂肪細胞分化への誘導療法が有効である可能性がある。故に我々はこの仮説を異型脂肪腫瘍腫瘍/高分化型脂肪肉腫 (ALT/WDL) を用いて検証しようと考えた。なぜなら、ほとんどの ALT/WDL において p53 機能低下につながる *murine double minute 2* (MDM2) 遺伝子の増幅が認められるからである。

<目的>

同一個体から ALT/WDL 組織と正常脂肪組織を採取し、MSC を分離培養し、骨芽細胞分化能と脂肪細胞分化能を比較する。

<方法>

ALT/WDL 患者 6 人から、腫瘍切除術の際に 3ml の正常脂肪組織と ALT 組織を採取した。脂肪分化能はオイルレッド O 染色後、抽出液の吸光度を測定して定量的に評価した。骨分化能は ALP 染色およびアリザリンレッド S 染色後に特定色域面積を測定し半定量的に評価した。ALP は骨芽細胞分化初期の代謝に関連し、アリザリンレッドはカルシウム沈着と関連する。各評価 (分化誘導と組織学的分析) は 2 回ずつ行われた。次に骨芽細胞分化の差異が生じたメカニズムを、MDM2 特異的阻害薬 Nutlin-3 の濃度を変えて加えることで分析した。

<結果>

脂肪分化能においては、予想に反して、正常脂肪由来 MSC においてより多くの脂肪滴が認められた。ただし抽出液の吸光度測定結果 (正常脂肪対 ALT/WDL) (\pm SD) は 0.34 (SD, \pm 0.13; 95% CI, 0.24-0.44) 対 0.25 (SD, \pm 0.10; 95% CI, 0.18-0.33; $p = 0.22$) で、有意差はなかった。対照的に、骨芽細胞分化能においては、ALT/WDL 由来 MSC でより強い分化能を認めた。ALP 染色に基づいた分化能の値 (正常脂肪対 ALT/WDL) (\pm SD) は 1.00 対 17 (SD, \pm 35.8; 95% CI, -2.83 to 37.67; $p = 0.04$) で中等度の効果量であった ($d = 0.65$)。しかしながら、アリザリンレッド S 染色に基づいた分化能の値 (正常脂肪対 ALT/WDL) (\pm SD) は 1.00 versus 4.24 (SD, \pm 4.75; 95% CI, 1.30-7.18; $p = 0.58$) で、有意差を認めなかった。骨芽細胞分化能の差異は MDM2 特異的阻害薬 Nutlin-3 濃度が上昇するにつれて減少した。各 Nutlin-3 濃度 (0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 $\mu\text{mol/L}$) における ALP 染色に基づく骨分化能 (正常脂肪対 ALT/WDL) (\pm SD) は 1.00 対 15 (SD, \pm 6.30; 95% CI, 9.79-20.83; $p = 0.001$) で効果量大 ($d = 3.66$)、0.66 (SD, \pm 0.28; 95% CI, 0.42-0.91) 対 4.38 (SD, \pm 1.95; 95% CI, 2.67-6.08; $p = 0.003$) で効果量大 ($d = 2.66$)、0.71 (SD, \pm 0.71; 95% CI, 0.09-1.33) 対 2.96 (SD, \pm 1.90; 95% CI, 1.30-4.62; $p = 0.038$) で効果量大 ($d = 1.57$)、0.40 (SD, \pm 0.28; 95% CI, 0.16-0.65) 対 1.05 (SD, \pm 0.73; 95% CI, 0.41-1.70; $p = 0.100$)、0.14 (SD, \pm 0.18; 95% CI, -0.01 to 0.30) 対 1.41 (SD, \pm 1.13; 95% CI, 0.41-2.40; $p = 0.039$) で効果量大 ($d = 1.57$)、そして 0.39 (SD, \pm 0.61; 95% CI, -0.14 to 0.93) 対 0.38 (SD, \pm 0.47; 95% CI, -0.04 to 0.79; $p = 0.963$) であった。

<結論>

脂肪分化においては予想に反して、吸光度を用いた定量的評価では有意差はないものの、正常脂肪由来 MSC でより多くの脂肪滴を認めた。骨芽細胞分化においては、予想通り、ALT/WDL 由来 MSC において正常脂肪由来 MSC より高い分化能を認めた。ALP 染色に基づく骨芽細胞分化能の差異は Nutlin-3 濃度の上昇に伴い消失し、ALT/WDL 由来 MSC における MDM2 遺伝子の増幅がより高い骨芽細胞分化能をもたらしている可能性を示唆した。今後の研究は遺伝子と蛋白発現を確認し、その分化能の差異をもたらすメカニズムに基づいて、正常組織と腫瘍組織の MSC の間の p53 の差異が、p53 の発現増加をもたらす薬剤や放射線などの刺激によって増強されるならば、より毒性が少なく、より有効な悪性腫瘍の MSC に対する分化誘導療法が生まれるかもしれない。