

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	① 乙 第	号	氏 名	豊 崎 光 信
主 論 文 題 名				
Dermal fibroblast-like cells reprogrammed directly from adipocytes in mouse (マウス脂肪細胞から皮膚線維芽様細胞へのダイレクトリプログラミング)				
(内 容 の 要 旨)				
Ⅱ～Ⅲ度熱傷 (Deep Burn : DB) において早期創閉鎖のために自家皮膚移植が多く用いられている。しかし、広範囲熱傷では利用可能な自家皮膚組織が少なく、早期創閉鎖達成は困難である。 ダイレクトリプログラミングはマスター因子の導入で細胞を別種の細胞へ直接変化させる手法で心筋細胞など様々な領域で成果を上げている。 本研究では、将来的な皮膚再生に繋がり得る試みとして、マウス脂肪細胞から皮膚線維芽細胞へのダイレクトリプログラミングを行った。 まず、マウスOP9細胞から脂肪細胞への分化誘導を行い、70~80%以上の確率で脂肪細胞への分化を得た。 ダイレクトリプログラミングにはレトロウイルスをベクターとし、6つのマスター因子候補 (ELF4、FOXC2、FOXO1、IRF1、PRRX1、ZEB1) とGFPをPlatinum E細胞へ導入し、ウイルス分泌液を脂肪細胞へ感染させた。感染効率は、40%程度であった。 マウスの尾から採取した細胞を皮膚線維芽細胞のpositive control (PC) とし、感染操作を行わず培養継続した脂肪細胞をnegative control (NC) とした。 感染細胞の形態変化をIncuCyte™システムで連続観察し、5~10日目にかけて細胞内脂肪滴縮小と皮膚線維芽細胞様の紡錘形への変化が確認できた。NCには同様の変化は認められなかった。 同時に、リアルタイムPCR法を用いて定量的解析も行った。脂肪細胞に多く発現し、OP9細胞やPCに少ないRNA (PPAR-2、c/EBP、Ap2、leptin) を脂肪細胞のマーカーとした。また、PCに多く発現し、OP9細胞や脂肪細胞に少ないRNA は皮膚線維芽細胞のマーカーになり得ると考えられ、確認したRNA (Thy1、VCAM1、Vim、Coll、Act1) の中でThy1が該当した。 脂肪細胞のマーカーはいずれもNCに比して感染細胞で有意にその発現が減少していることを確認できた。(P<0.05) 一方でThy1の発現が感染細胞で増加していることの確認はできなかった。(P=0.2) さらに、免疫染色法を用いての評価も行った。anti-ER-TR7を皮膚線維芽細胞のマーカー、anti-FABP4を脂肪細胞のマーカーとした。anti-ER-TR7で染色された細胞の割合は、NCに比して感染細胞で有意に多かった。(P<0.05) 一方で、anti-FABP4で染色された細胞の割合は、NCに比して感染細胞で少ない傾向にあったが、有意差はなかった。(P=0.3) 6つのマスター因子導入によりマウス脂肪細胞の皮膚線維芽様細胞へのダイレクトリプログラミングに成功した。DBに対する新たな治療に繋がる可能性がある。今後、より精度を上げるために、ウイルスベクターの見直しや、コアとなるマスター因子の絞り込みが必要と考えられる。				