

氏 名	やま かわ とも ゆき 山 川 知 之
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3238 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Nerve regeneration promoted in a tube with vascularity containing bone marrow-derived cells (骨髄間葉系細胞を用いた血管含有チューブ内神経再生について)
論文調査委員	(主 査) 教 授 堤 定 美 教 授 瀬 原 淳 子 教 授 鈴 木 茂 彦

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】骨髄間葉系細胞は骨、軟骨、脂肪だけでなく、神経系細胞にも分化する多分化能を有する幹細胞である。骨髄間葉系細胞を血流のある血管茎を入れた神経架橋チューブ内に加えることで、移植細胞がチューブ内の豊富な血流にて生存し、神経再生環境によりシュワン細胞に分化誘導され、チューブ内神経再生が促進されるのではないかと考えた。

【方法】雄ルイスラットの腓腹動静脈を血管茎とする有茎血管含有シリコンチューブを作成し、坐骨神経の 15mm 欠損を架橋した。雄ルイスラットの骨髄間葉系細胞 $1\sim 2\times 10^7$ 個をこのチューブ内に移植した(骨髄間葉系細胞群)。コントロールとしてチューブ内に雄ルイスラットの線維芽細胞 $1\sim 2\times 10^7$ 個を移植した群(線維芽細胞群)と細胞を移植していない群(無移植細胞群)の 3 群を作成した。術後 3 ヶ月、6 ヶ月で神経再生を電気生理学的、組織学的に検討した。また、雌ルイスラットにも同様の細胞移植を行い、再生神経内で移植した雄細胞の存在を *Sry* (sex-determining region of the Y-chromosome) に特異的な PCR 法で調べ、移植した骨髄間葉系細胞のシュワン細胞への分化を調べるため、Y 染色体に対する *in situ* hybridization にて標識された雄細胞の抗 S-100 抗体、抗 GFAP 抗体による染色を確認した。さらに、移植前の骨髄間葉系細胞に対して PKH26 を使用して標識し再生した神経において抗 S-100 抗体、抗 GFAP 抗体による染色を同スライド内で確認した。

【結果】術後 3 ヶ月では大部分の骨髄間葉系細胞群において足部内転筋に M 波が導出された。線維芽細胞群と無移植細胞群では導出されなかった。術後 6 ヶ月では足部内転筋の活動電位、伝導速度とも他より有意に骨髄間葉系細胞群で高く、また血管無し群は線維芽細胞群と比べて有意に高かった。同様に有髄神経軸索数、最小軸索直径、神経組織面積は骨髄間葉系細胞群が他より有意に大きく、無移植細胞群は線維芽細胞群より有意に大きかった。PCR 法により再生神経内において移植した骨髄間葉系細胞は約 29% 残存しており、移植した細胞は S-100、GFAP とともに陽性であった。骨髄間葉系細胞群では PKH26 で標識した移植細胞が抗 S-100 抗体、抗 GFAP 抗体で染色されることが確認された。

【考察】骨髄間葉系細胞は培養条件、移植された環境によりシュワン細胞を含めた神経系細胞に分化し、神経再生に寄与することを実証した論文が多く発表されている。骨髄間葉系細胞を移植前に *in vitro* で分化させなくとも、神経再生に適した環境内に移植することで、移植細胞が神経再生を促進した。チューブ内に移植された骨髄間葉系細胞は血管束からの酸素、栄養の供給により生存し、神経成長因子等が豊富に存在するチューブ内の環境下でシュワン細胞に分化誘導され、神経再生を促進させたと考えられる。今後、他の細胞を移植したり、他の動物種に行ったり、またチューブの素材などを検討することで臨床に応用が可能かどうか検索する必要がある。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

骨髄間葉系細胞(BMC)は、多分化能を有する幹細胞で、BMC を移植した血管茎含有チューブで末梢神経断端を架橋すれば、移植 BMC が豊富な血流のある環境で生存し、神経断端より分泌される種々の神経成長、栄養因子によりシュワン細胞

胞に分化誘導され、チューブ内神経再生が促進されるのではないかと考えた。そこで雄ルイスラットの腓腹動静脈を有茎でシリコンチューブ内に挿入し、そのチューブで 15mm の坐骨神経欠損を架橋した。その後雄ルイスラットより採取した BMC をチューブ内に移植した。対照としてチューブ内に線維芽細胞を移植した群と細胞を移植しない群を作成し、これら 3 群間の神経再生を電気生理学的、組織形態学的に検索した。*Sry* 特異的 PCR 法を用いてチューブ内に再生した神経内の移植 BMC 量を半定量した。また移植 BMC のシュワン細胞への分化を調べるため、PKH26 で標識した BMC をチューブ内に移植し、再生神経内の PKH26、抗 S-100 抗体、抗 GFAP 抗体陽性細胞を検索した。BMC 移植チューブ内での神経再生は他の 2 群より有意に良好であった。再生神経内の移植 BMC 由来細胞は約 29% で、抗 S-100 抗体、抗 GFAP 抗体陽性であった。以上の結果より、チューブ内に移植された BMC は、シュワン細胞に分化誘導され、神経再生を促進させたと考えられる。以上の内容は末梢神経損傷における新しい治療法の開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお本学位授与申請者は平成 20 年 2 月 21 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。