

氏 名	はやし 純 や 哉
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3003 号
学位授与の日付	平 成 18 年 5 月 23 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 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学位論文題目	Primate Embryonic Stem Cell-derived Neuronal Progenitors Transplanted into Ischemic Brain (霊長類胚性幹細胞由来神経前駆細胞の虚血脳内への移植)
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 辻 憲 夫 教 授 篠 原 隆 司 教 授 山 中 伸 弥

論 文 内 容 の 要 旨

神経疾患に於ける再生医療として、パーキンソン氏病に対するドーパミン作動性ニューロンの補充、新生を意図した神経幹細胞、胚性幹細胞（ES 細胞）の分化誘導あるいは疾患モデルに対する移植研究が鋭意なされているが、脳卒中の分野に於いても幹細胞移植は神経細胞のダメージや、機能の回復の可能性を秘めていると思われる。そこで前回著者らはマウス胚性幹細胞（ES 細胞）を神経前駆細胞へ分化誘導しマウス虚血脳に移植を行うことで移植細胞の虚血脳内での動向を解析した（参考論文）。

今回はこれを基に著者らは霊長類の ES 細胞であるカニクイザル ES 細胞由来神経前駆細胞をマウス虚血脳に移植し、サル ES 細胞の虚血脳内での生着、多様な神経の表現系への分化、そして宿主と移植片のネットワーク形成の可能性について検証した。サル ES 細胞には CMK6 あるいは CMK9 を用い SDIA 法（PA6 との共培養）を14日間行うことにより神経前駆細胞へ分化誘導した。マウスの局所脳虚血モデルの作製には中大脳動脈を血管内から閉塞するスレッド法を用い、30分間の一過性閉塞により外側線条体に限局する脳梗塞を惹起した。そして虚血再灌流の24時間後に虚血に陥った外側線条体にそれらの細胞を、病巣当たり10-40万個定位的に移植した。また、移植3日前から灌流固定までの間、サイクロスポリン A を飲料水に混入し免疫抑制を行った。その結果、虚血脳内に移植された細胞は虚血巣内に広範囲に生着し、多様な表現系の神経やグリアに分化することが確認された。その中には線条体ニューロンのマーカーを発現する細胞も見られた。また、移植28日後にはシナプス前顆粒のマーカーであるシナプトフィジンが移植片内で陽性となり、更に神経の逆行性トレーサーであるフルオロゴールドを灌流固定の7日前に前部視床や黒質に定位的にラベルしたところ、移植28日後には移植14日後の10倍以上の移植細胞がフルオロゴールドを取り込むことが確認された。これらの結果から移植されたサル ES 細胞由来神経前駆細胞はマウス虚血脳内で生着し多様な神経の表現系に分化し、更に宿主神経とネットワークを形成する可能性があることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

胚性幹細胞（ES 細胞）移植は虚血性脳血管障害に対し有効な治療となりえる可能性が指摘されている。申請者らは過去にマウス ES 細胞を神経前駆細胞に分化誘導し局所脳虚血モデルの虚血脳に対して同種移植を行い移植片の宿主内での生着について報告した。これを基に本研究では霊長類 ES 細胞由来神経前駆細胞の虚血脳内での動向を知るために、stromal cell-derived inducing activity 法（SDIA 法）により神経前駆細胞に分化誘導されたサル ES 細胞を、マウス中大脳動脈の一過性閉塞（30分間閉塞）によって生じた脳梗塞巣（外側線条体）に虚血再灌流の24時間後に移植を行い、その28日後までの生着及び分布を免疫組織学的に検討した。

虚血外側線条体に移植された神経前駆細胞は虚血脳内に広く生着分布することが確認された。また、虚血脳内に生着した移植細胞は様々な神経伝達物質の指標を発現していた。更に移植28日後にはシナプス前顆粒の指標であるシナプトフィジン

が移植片内で陽性となり、灌流固定の7日前に前部視床と黒質にラベルされた神経の逆行性追跡子であるフルオロゴールドが移植28日後に移植片内に取り込まれることが確認され、これらのことにより移植片と宿主間にネットワークを形成する可能性を示唆された。以上の結果により、ES細胞が虚血性脳血管障害に対する移植治療の材料として今後発展しうることが示唆された。

以上の研究は脳血管障害に対する新しい治療戦略の確立に対して貢献するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成18年2月28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。