

京都大学	博士（ 医 学）	氏 名	吉 田 充 裕
論文題目	Adipose Tissue-Derived Stromal Cells Protect Hair Cells From Aminoglycoside (脂肪組織由来間葉系細胞はアミノ配糖体から有毛細胞を保護する)		
(論文内容の要旨)			
感音難聴は頻度の高い障害であるが、現在のところ、急性期難聴に対してのステロイド投与方法以外には治療はなく、ステロイド投与によっても聴力回復が認められないことも少なくない。感音難聴の多くは蝸牛有毛細胞の障害によると考えられる。哺乳類では一度傷害を受けた有毛細胞は再生しないとされているが、感音難聴の新規治療戦略として、有毛細胞を再生・保護することに関心が寄せられている。 一方、幹細胞や間葉系細胞の移植による組織再生を考える場合、2つの効果が期待される。一つは移植細胞の目的とする細胞への分化による効果であり、もう一つは移植細胞から分泌される栄養因子による傷害組織の再生効果である。これまでに、後者である移植細胞のパラクライン効果による血管新生や肝障害の改善の報告があり、内耳組織においても同様の効果が期待できないか検討することとした。本研究では、間葉系細胞として、容易に採取が可能である脂肪組織由来間葉系細胞を用いることとした。 脂肪組織由来間葉系細胞を1週間培養したのち内耳傷害を引き起こす薬剤であるネオマイシンを加えた培養液中で、脂肪組織由来間葉系細胞と生後3日齢のマウス蝸牛上皮の共培養を行った。また対象群として、脂肪組織由来間葉系細胞を培養せずネオマイシンを加えた培養液中で生後3日齢のマウス蝸牛上皮の培養を行った。マウス蝸牛上皮の培養1日後の残存有毛細胞数をF-アクチン染色で評価したところ、対象群と比較して脂肪組織由来由来間葉系細胞を用いた群で、有意な残存有毛細胞数の増加を認めた。 次に、脂肪組織由来間葉系細胞が分泌する成長因子について検討を行った。脂肪組織由来間葉系細胞を1週間培養した培養上清中の成長因子の濃度をELISAを用いて測定したところ、肝細胞増殖因子、インスリン様成長因子1、トランスフォーミング増殖因子β1、血管内皮細胞増殖因子、神経成長因子が検出された。 これまでに、肝細胞増殖因子、インスリン様成長因子1、トランスフォーミング増殖因子β1、神経成長因子などの成長因子の内耳傷害に対する内耳保護効果が報告されており、今回の実験においても、脂肪組織由来間葉系細胞が分泌したこれらの成長因子のパラクライン効果により、ネオマイシンによる内耳傷害が軽減されたものと考えられた。 本研究と同じ蝸牛器官培養系内耳傷害モデルを用いて肝細胞増殖因子の内耳保護効果を検討した。内耳保護効果が認められた肝細胞増殖因子の濃度と本研究で認められた肝細胞増殖因子の濃度を比較した場合、本研究で認められた肝細胞増殖因子の濃度は、内耳保護効果に十分なものではなかった。このことから、複数の成長因子の相乗効果により、内耳保護効果が得られたと考えられた。 今後、聴覚障害モデル動物の蝸牛へ脂肪組織由来間葉系細胞を移植することにより、生体内での脂肪組織由来間葉系細胞の内耳への効果を確認していく予定である。			

（論文審査の結果の要旨） 感音難聴で最も頻度の高い障害部位である有毛細胞は、哺乳類では再生しないため、その再生・保護を目的とした治療戦略が検討されている。一方、幹細胞や間葉系細胞のパラクライン効果による機能回復の報告がある。本研究では脂肪組織由来間葉系細胞（ADSC）のパラクライン効果による内耳保護の可能性について検討した。 内耳毒性のあるネオマイシンを添加した培養液中で蝸牛感覚上皮とADSCを共培養したところ、ADSCなしのコントロール群に比較して、有毛細胞障害は軽減された。ADSCの培養上清中の成長因子の濃度をELISAで測定したところ、肝細胞増殖因子は 6154.62 ± 2673.18 pg/ml、インスリン様成長因子1は 889.69 ± 355.21 pg/ml、トランスフォーミング増殖因子β1は 502.00 ± 502.00 pg/ml、血管内皮細胞増殖因子は 327.53 ± 63.90 pg/ml、神経成長因子は 76.53 ± 33.89 pg/ml であった。 今回と同じ内耳障害モデルで、肝細胞増殖因子単独で内耳保護効果を認めるには、20000 pg/ml の肝細胞増殖因子が必要であったことから、本研究では、ADSCにより分泌された複数の成長因子の相乗効果により内耳保護効果が得られたと考えられた。 以上の研究はADSCによる内耳有毛細胞保護効果の解明に貢献し、将来の有毛細胞保護・難聴治療の発展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24年3月5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。
要旨公開可能日： 2012 年 3 月 8 日 以降