京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	早瀬 睦
論文題目	Committed neural progenitor cells derived from genetically modified bone marrow stromal cells ameliorate deficits in a rat model of stroke （遺伝子改変を行った骨髄間質細胞由来の神経前駆細胞はラット脳虚血モデルにおける神経脱落症状を改善する）		

（論文内容の要旨）

脳梗塞においては、発症後数時間の超急性期を除いては、神経機能回復を期待しうる治療法は存在しない。細胞移植による再生医療は、脳梗塞や他の神経疾患に対して有効な治療法になりうるとして注目されている。骨髄間質細胞（MSCs）は多分化能を有し、脳梗塞動物モデルへの投与で機能回復が得られたという報告があるが、その機序については移植された MSCs の神経細胞への分化ではなく、栄養因子の放出であるとされている。

本研究では、ヒトおよびラット骨髄間質細胞での Notch-1 細胞内ドメイン導入による神経前駆細胞への分化、ならびに虚血脳内での動向を解析した。

骨髄間質細胞に Notch-1 細胞内ドメインをトランスフェクションし、浮遊培養を行うと球形の細胞塊（NS-MSCs）を形成した。NS-MSCs は Nestin、NeuroD、SOX2 など神経前駆細胞のマーカーを発現し、さらに分化誘導することにより突起を伸張し MAP2、Tuj-1 など神経細胞のマーカーを発現した。その機能においては Glutamate、TH、ChAT、Serotonin、GABA といった伝達物質関連のマーカーの発現が免疫染色、RT-PCR で確認でき、HPLC でドーパミンの放出を確認した。

これらの結果により、NS-MSCs は神経前駆細胞としての多分化能と自己複製能を有していると考えられ、ラット中大脳動脈閉塞モデルに移植し、機能回復と虚血脳内での挙動を検討した。NS-MSCs 移植により行動学的に改善が見られ、移植後 100 日目において NS-MSCs は MSCs と比べ有意に多く脳内に定着しており、シナプトフィジンの発現や黒質に注入したフルオロゴールドの取り込みがみられた。

以上の結果から、骨髄間質細胞に Notch-1 の細胞内ドメインを導入し浮遊培養することで、多彩な神経細胞に分化可能な神経前駆細胞様細胞に分化し、ラット脳虚血モデルへの移植においても、神経回路の再建に関与する可能性が示唆された。

（論文審査の結果の要旨）

骨髄間質細胞を用いた細胞移植が虚血性脳血管障害の治療として注目されているが、移植された細胞が神経系細胞に分化する率は極めて低く、放出される栄養因子が機能回復をもたらすとされている。

本研究において、Notch-1 細胞内ドメインを導入された骨髄間質細胞が、神経幹細胞様のニューロスフェア形成能、自己複製能、多分化能を示す事を確認した。

骨髄間質細胞に Notch-1 細胞内ドメインを導入し浮遊培養することで形成される球形の細胞塊をラット中大脳動脈閉塞モデルに移植すると、100 日間にわたり神経脱落症状が改善する事を確認した。移植後 100 日目において、移植した細胞は広く虚血脳内を分布し、神経細胞や神経伝達物質のマーカーを発現していた。また線条体における移植細胞が、黒質に注入したフルオロゴールドを取り込むことやシナプトフィジンを発現する事を確認した。

これらの結果から、骨髄間質細胞は Notch-1 細胞内ドメインを導入し浮遊培養する事で、多彩な神経細胞に分化可能な神経前駆細胞の性質を獲得し、ラット脳虚血モデルへの移植においても機能回復が得られ、単なる栄養因子放出作用によるものでは無く移植細胞が虚血脳内で神経系の細胞に分化し、神経回路の再建に関与する可能性が示唆された。

以上の研究は骨髄間質細胞からの新たな神経細胞誘導法の開発に貢献し、虚血性脳血管障害に対する細胞移植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25年8月16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： 年 月 日 以降