

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	中 村 陽 子
論文題目	Enhanced wound healing by topical administration of mesenchymal stem cells transfected with stromal cell-derived factor -1 （ストロマ細胞由来因子遺伝子を導入した間葉系幹細胞による創傷治癒の促進）		
（論文内容の要旨）			
【背景】			
難治性の皮膚創傷に対して様々な治療法が試みられている。細胞治療はその一つであり、皮膚創傷に対して骨髄間葉系幹細胞（MSC）を移植することで、その創傷治癒が促進されることが報告されている。その機序は、移植した MSC の分化転換や分泌因子によるとされているが、移植された MSC の生着やその機能発現が悪く、必ずしも期待通りの治療効果が得られないことも多い。 ストロマ細胞由来因子（SDF-1）は創傷治癒の初期に発現し、SDF-1 レセプター（CXCR4）を発現している MSC や血管内皮細胞、造血幹細胞などを遊走させ、血管新生や創傷治癒を促進する。難治性潰瘍である糖尿病性潰瘍や放射線潰瘍では、創部での SDF-1 の発現が低下し、このため創傷治癒が遅延することが報告されている。また、SDF-1 は in vivo / in vitro の両方において MSC の生存率を向上させることも報告されている。 本研究では、臨床的により安全な非ウイルス性ベクターを用いて SDF-1 遺伝子を MSC に導入し、MSC の生理機能を向上させることで、MSC による創傷治癒をさらに促進させることを目的とした。			
【方法】			
Fisher ラット大腿骨髄より MSC を採取し、非ウイルス性ベクターであるスperlミン導入プルランを用いて SDF-1 遺伝子を導入し、SDF-1 遺伝子導入 MSC（SDF-MSC）を作製した。In vitro にて、SDF-1 分泌能・分泌期間、皮膚の創傷治癒に重要な他のサイトカインの分泌能、分泌されたサイトカインによる細胞遊走能などの生理機能について、SDF-MSC と MSC を比較検討した。 さらに SDF-MSC と MSC をラット背部に作製した皮膚欠損創に移植し、in vivo において、移植細胞の残存率および創閉鎖率、上皮進展距離、新生血管数から創傷治癒効果を検討した。			
【結果・考察】			
SDF-MSC は約 7 日間にわたり SDF-1 を分泌した。SDF-MSC から分泌された SDF-1 は CXCR4 を発現している MSC を遊走させ、生理活性があることが確認できた。 In vitro において、SDF-MSC は MSC に比べ、創傷治癒の過程で重要な役割をもつ皮膚線維芽細胞を有意に遊走させた。さらに、創傷治癒を促進させるサイトカインである VEGF、HGF、IL-6 を有意に分泌していた。これらの結果から、SDF-MSC が MSC に比べ、創傷治癒を促進させることが示唆された。			

In vivo の実験において、SDF-MSC 移植群は MSC 移植群に比べ、創閉鎖率、上皮進展距離、新生血管数のいずれにおいても有意に促進し、SDF-MSC が創傷治癒促進能をもつことが認められた。さらに、SDF-MSC は MSC に比べ移植 1 週間後および 2 週間後での残存率が有意に高く、SDF-1 遺伝子を導入することで MSC の生着率および生存率が促進され、これが MSC の生理機能を亢進させ、創傷治癒の促進に関与したと考えられた。 【結語】 臨床的により安全である非ウイルス性ベクターを用いて、SDF-1 遺伝子を MSC に導入することができた。SDF-MSC から分泌される SDF-1 は生理活性をもち、MSC の生理機能を in vitro / in vivo の両方において亢進させた。この結果、SDF-MSC は in vivo において創傷治癒を促進させた。 この治療法は、創傷治癒過程において SDF-1 分泌が障害されている糖尿病性潰瘍や放射線潰瘍などの難治性潰瘍への応用が期待できる。
(論文審査の結果の要旨) 細胞移植治療は難治性皮膚創傷に対する治療法の一つであり、間葉系幹細胞（MSC）移植は、創傷治癒を促進させると報告されている。しかしながら移植された MSC の生着やその機能発現が悪く、必ずしも期待通りの治療効果が得られないことも多い。本研究では、臨床的に安全性の高い非ウイルス性ベクターを用いて機能遺伝子を MSC に導入し、MSC の生理機能を向上させることで、MSC 移植治療による創傷治癒をさらに促進させることを目的とした。ストロマ細胞由来因子（SDF-1）は創傷治癒の初期に発現する重要な因子の一つであり、この SDF-1 遺伝子を機能遺伝子として用いた。 非ウイルス性ベクターであるスperlミン導入プルランを用いて SDF-1 遺伝子をラット MSC に導入し、SDF-1 遺伝子導入 MSC（SDF-MSC）を作製した。In vitro にて、SDF-MSC の生理機能を評価し、in vivo において SDF-MSC 移植による創傷治癒効果について検討した。その結果、SDF-1 遺伝子の導入により MSC の生理機能は亢進され、in vivo 移植実験において創傷治癒の促進を認めた。 以上から、MSC に対する機能遺伝子（SDF-1 遺伝子）の導入は、皮膚創傷に対する MSC 移植治療の臨床応用の可能性を向上させると考えられた。 以上の研究は、細胞移植治療奏効機序の解明に貢献し、難治性皮膚創傷に対する新たな治療法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のあるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 25 年 12 月 9 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