

氏名(本籍)	木村健一(東京都)			
学位の種類	博士(医学)			
学位記番号	博甲第6216号			
学位授与年月日	平成24年3月23日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	異なる臓器由来ヒト間葉系幹細胞の機能解析			
主査	筑波大学教授(連携大学院)	博士(医学)	中村幸夫	
副査	筑波大学准教授	医学博士	高野晋吾	
副査	筑波大学講師	博士(理学)	依馬正次	
副査	筑波大学教授(連携大学院)	博士(薬学)	谷口彰良	

論文の内容の要旨

(目的)

間葉系幹細胞(mesenchymal stem cells: MSC)は様々な組織へと分化することが可能な組織幹細胞である。近年、骨髄由来MSCを用いた細胞治療が行われているが、骨髄由来MSCは早期に増殖能が低下する点、サンプル採取時に浸襲性が高い点などの問題点が挙げられている。そこで、より治療効果の高い細胞を効率よく治療に用いるべく、MSCの中からより機能的な増殖能および分化能が高い細胞の分離を目指した。さらには、現状の骨髄由来MSCに代わる新たなMSCの探索のため、脂肪組織、歯組織由来MSCの性質と比較検討した。

(対象と方法)

ヒト骨髄、歯、脂肪、臍帯血、胎盤組織よりMSCを単離し、機能解析を行なった。ヒト臍帯血由来MSCをALDH酵素活性の違いによって酵素活性の高い群(Alde-High MSC)と低い群(Alde-Low MSC)に分離した。また、ヒト胎盤由来MSCをCD349発現の違いによって分離した。自家移植が可能である成体組織由来MSCを単離し、性質を比較した。それぞれ以下の点について解析した。1)細胞表面マーカーの発現解析、2) *in vitro*における細胞の増殖能、分化能の比較、3) *in vivo*における骨形成能および虚血改善能の違いについて比較検討、4)遺伝子発現解析。以上の方法により、より細胞治療に有用なMSCを同定するとともに、組織再生効果の高いMSCの分離を行った。

(結果)

臍帯血由来MSCをALDH酵素活性の違いによって分離した。*In vitro*において、Alde-High MSCはAlde-Low MSCと比較して高い増殖能および分化能を有することが明らかとなった。マウス大腿骨骨折モデルを用いて骨形成能を解析したところ、Alde-High MSC移植群はAlde-Low MSC移植群と比較して有意に骨形成能が高かった。また、Alde-High MSCは、低酸素応答性に優れ、血管新生関連因子の発現が高く、接合部位における血管新生促進効果が高かった。

胎盤由来MSCをCD349発現の違いにより分離し、性質を比較検討した。CD349陽性MSCはCD349陰性MSCと比較して、*in vivo*における骨形成能が高かった。一方で、CD349陰性細胞はCD349陽性MSCと比較

してマウス虚血モデルにおける虚血改善能が高く、血管新生関連因子の発現が高かった。

各成体組織由来は、*in vitro* において骨、脂肪、軟骨細胞への分化能が同程度であった。一方で、*in vivo* における骨形成能は脂肪組織由来 MSC が骨髄由来 MSC および歯組織由来 MSC と比較して最も高かった。さらに、脂肪組織由来 MSC は *in vivo* において虚血改善能が高く、血管新生関連因子および遊走因子を高発現することで血管新生を促進していた。

(考察)

将来の細胞治療を見据えて、自家移植可能な各成体組織由来 MSC の機能解析を行った。MSC は由来する組織によって性質が異なることが明らかとなった。脂肪組織由来 MSC は骨髄由来 MSC および歯組織由来 MSC と比較して、骨形成能および虚血改善能が高かった。この結果、脂肪組織由来 MSC は骨髄由来 MSC に代わり骨折治療および虚血性疾患への治療に有用であることが示唆された。また、ALDH 酵素活性および CD349 発現を指標として細胞を分離することで性質の異なる集団に分離できることが示され、細胞治療に有用な MSC を単離することが可能であることが強く示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

再生医療分野では、現在は ES 細胞や iPS 細胞が脚光を浴びているが、ES 細胞や iPS 細胞の臨床応用には腫瘍化の問題が大きな障壁となっている。一方で、体性幹細胞は短期培養後に臨床へ応用することが可能な幹細胞であり、腫瘍化の可能性はきわめて低い。特に、間葉系幹細胞は多分化能を有し、培養技術もかなり開発が進んでおり、きわめて有力な体性幹細胞である。本研究は間葉系幹細胞を臨床応用することを視野に入れた先導性を有するきわめて優れた研究成果であると判断できる。

平成 23 年 12 月 26 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。