

論文内容要旨

論文題目

大型動物ミニブタ肝線維化モデルにおける多能性幹細胞 Muse (Multilineage-differentiating stress enduring) 細胞移植の有効性の検討

責任講座： 内科学第二 講座
氏 名： 仁科 武人

【内容要旨】(1,200 字以内)

〔背景〕肝硬変患者では肝移植が唯一の根治療法である。近年、間葉系幹細胞 Mesenchymal stem cell (MSC) を応用した肝再生療法が試みられている。MSC の中には再生療法に有効な幹細胞が存在しており、その一つに Multilineage-differentiating stress enduring (Muse) 細胞がある。マウスモデルを用いた Muse 細胞移植実験において肝線維化改善効果が示されているが、大型動物では明らかではない。本研究ではミニブタ肝線維化モデルを作製し、新規肝再生療法としての Muse 細胞移植による肝再生、肝線維化の改善効果について検討した。

〔方法〕Muse 細胞と MSC はミニブタ (Göttingen 種、オス) の骨髓細胞より採取した。レシピエントのミニブタ (Göttingen 種、メス) に 12 週間の四塩化炭素腹腔内反復投与を行い、肝線維化モデルを作製し、Muse 細胞および MSC を耳静脈から投与した。細胞移植後に採血と肝生検を行い、Muse 群 (n=6)、MSC 群 (n=6)、Vehicle 群 (n=7) の 3 群で肝再生、肝線維化について評価を行った。

〔結果〕ミニブタへの四塩化炭素投与 12 週後の肝組織ではエラスティカ・マッソン染色で肝線維化を認めた。移植 4 週後にレシピエントのミニブタ肝内に移植細胞の生着と肝細胞への分化を確認した。Muse 細胞群において移植 4 週後に血清アルブミン値の有意な改善を認めた ($p<0.05$)。Proliferating cell nuclear antigen 免疫染色では、Vehicle 群と比して Muse 細胞群で有意な陽性細胞数の上昇を認めた ($p<0.05$)。肝線維化の評価では、移植 12 週後に Vehicle 群と比して Muse 細胞群で、エラスティカ・マッソン染色での肝線維化の有意な改善 ($p<0.05$) と α -Smooth muscle actin 免疫染色での陽性領域の有意な低下 ($p<0.05$)、Muse 細胞移植で肝線維化の改善を認めた。

〔考察〕本研究では四塩化炭素腹腔内投与によるミニブタ肝線維化モデルの作製に成功した。Muse 細胞移植により肝予備能、肝線維化の有意な改善が確認できた。その理由としては Muse 細胞の肝細胞へ分化と Muse 細胞による線維化改善が考えられた。本研究で使用したミニブタは多数の個体確保及び同時期の解析が困難で、個体間のばらつきもあり、本研究の限界と考えられた。

〔結論〕大型動物ミニブタを用いて肝線維化モデルの作製に初めて成功した。ブタ Muse 細胞移植により肝予備能と肝線維化の有意な改善を認めた。今後、Muse 細胞の肝硬変患者への臨床応用に向けて、投与方法や安全性について、さらに検討することで新たな肝再生療法につながる可能性がある。

令和2年1月20日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：仁科 武人

論文題目：大型ミニブタ肝線維化モデルにおける多能性幹細胞 Muse (Multilineage-differentiating stress enduring) 細胞移植の有効性の検討

審査委員：主審査委員 山川 光徳



副審査委員 三井 哲夫



副審査委員 中村 孝夫



審査終了日：令和2年1月9日

【予備審査結果の要旨】

幹細胞は、自己複製能と分化能の2つの特徴を併せ持つ細胞である。特定の細胞系譜内で限られた細胞種にのみ分化可能な幹細胞は組織幹細胞と呼ばれ、組織内の恒常性維持や修復において重要な役割を担う。骨髄組織には造血幹細胞と間葉系幹細胞の2つの組織幹細胞がある。骨髄における間葉系幹細胞は、骨・軟骨・脂肪そして間質細胞などへの多分化能を持つ細胞で、細網細胞の一種で骨髄腔内に複数の長い突起を伸ばし、血管内皮細胞に接近し、あるものは血管を覆うようにして間質側に存在する。骨髄では、血管内皮細胞、間葉系幹細胞、巨核球、その他の細胞（交感神経、Schwann細胞、マクロファージ、制御性T細胞など）が造血幹細胞ニッチ形成に関わり、造血幹細胞からの造血を支えている。

さらに間葉系幹細胞の中には再生能の高い幹細胞が存在し、その一つが Muse (Multi-lineage-differentiating stress enduring) 細胞である。Muse細胞は障害臓器を認識し、組織再生が高いことが知られている。本研究では大型動物ミニブタの肝障害・肝線維化モデルを作成し、骨髄由来 Muse 細胞移植が肝再生・肝線維化に及ぼす効果について検討した。

その結果、大型動物であるミニブタに四塩化炭素を腹腔内に反復投与することで、肝障害・肝線維化モデルに相当する所見が得られた。さらに、これらのミニブタに Muse 細胞を移植することで、より早期から肝機能の改善がみられ、長期観察でも肝腺組化の改善を認めた。Muse細胞を用いた細胞移植は、肝再生治療の候補として十分に期待ができると、結論付けている。

以上、本研究には重要な新知見が含まれており、これらの結論を導き出す過程についても熟慮され、結果に対する十分な考察もなされていた。本研究は、大型動物の肝障害モデルに対する Muse 細胞移植法の有用性を示した優れた論文と思われた。本審査委員会では、全員一致して、「博士（医学）論文に値する」と判断した。

(1,200字以内)