慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Transplantation of in vitro expanded fetal neural progenitor cells results in neurogenesis and functional recovery after spinal cord contusion injury in adult rats.
Sub Title	試験管内で増殖させた胎児神経前駆細胞の移植による成体ラットにおける脊髄圧挫損傷後のニューロン新生と機能回復
Author	小川, 祐人
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.1 (2003. 3) ,p.6-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030304-0006

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Transplantation of *in vitro* expanded fetal neural progenitor cells results in neurogenesis and functional recovery after spinal cord contusion injury in adult rats.

（試験管内で増殖させた胎児神経前駆細胞の移植による
成体ラットにおける脊髄圧挫損傷後のニューロン新生と機能回復）

小　川　　祐　人

内容の要旨

外傷性脊髄損傷は四肢に重篤な障害を残す疾患である。現在、機能回復を目的とした様々な治療法の開発が試みられており、その一つに損傷脊髄組織を再生させることで機能回復を得ようとする試みがある。近年のneuroscienceの目覚ましい進歩によりin vitroでの中枢神経系神経幹細胞の培養法が確立され、少量の胎児組織より大量の神経幹細胞を確保することが可能となってきた。この培養神経幹細胞を移植材料として用いることで損傷脊髄組織の再生が得られる新規の治療法を確立できる可能性がある。そこでわれわれは本研究において、胎児脊髄由来の主に培養中枢神経系神経幹細胞を含む神経系前駆細胞を脊髄損傷部に移植することで組織再生及び運動機能回復が得られるかについて検討した。

神経幹細胞の培養はラット胎児脊髄を用いて行った。ラット脊髄損傷モデルは、成体ラット雌を用い頚髄部に重錘を静置する事により作製した。移植は損傷後９日目に行い、培養細胞を標識した後に損傷部に注入した。また、移植後のニューロンの新生を検討するために、ニューロンに特異的に発現するαtubulinであるTα-1のプロモーター制御下にenhanced yellow fluorescent protein（EYFP）を発現するTα-1-EYFPトランスジェニックラット由来の培養細胞を移植した。次に移植後に分裂した細胞を標識するために、bromodeoxyuridine（BrdU）をホストのラットに対して移植後投与した。移植後５週でラットを還流固定し、移植部脊髄を免疫組織学的に、また電子顕微鏡用いて検討した。運動機能評価は移植後５週で行った。

移植細胞は移植部に生着しており、移植細胞由来のニューロン、オリゴデンドロサイト、アストロサイトが存在していた。またTα-1-EYFPトランスジェニックラット由来の細胞を移植した検体を抗BrdU抗体とEYFPと交叉反応のある抗green fluorescent protein（GFP）抗体で二重染色すると共陽性の細胞が存在していた。このことより、移植後ホスト脊髄内において移植細胞が増殖した後にニューロンへ分化したことが証明された。さらに抗GFP抗体で移植細胞由来のニューロンを染色した後に電子顕微鏡で組織を観察したところ、移植細胞由来のニューロンの軸索に髄鞘化が認められ、移植細胞由来のニューロンとホストのニューロンとの間にシナプス形成が認められた。運動機能評価では対照群に比し、移植群で有意な改善がみられた。

本研究においてわれわれは、胎児脊髄由来培養神経系前駆細胞を損傷脊髄に移植することで、損傷部にニューロンを含む神経系細胞を新たに導入することができた。また、移植により運動機能が改善することを確認した。

論文審査の要旨

外傷性脊髄損傷は四肢に重篤な障害を残す疾患である。現在、機能回復を目的とした様々な治療法の開発が試みられており、その一つに損傷脊髄組織を再生させることで機能回復を得ようとする試みがある。近年のneuroscienceの目覚ましい進歩により、in vitroでの中枢神経系神経幹細胞の培養法が確立され、少量の胎児組織より大量の神経幹細胞を確保することが可能となってきた。この培養神経幹細胞を移植材料として用いることで損傷脊髄組織の再生が得られる新規の治療法を確立できる可能性がある。そこでわれわれは本研究において、胎児脊髄由来の主に培養中枢神経系神経幹細胞を含む神経系前駆細胞を脊髄損傷部に移植することで組織再生及び運動機能回復が得られるかについて検討した。その結果、移植細胞由来のニューロン、オリゴデンドロサイト、アストロサイトを損傷脊髄内に生着させることができた。また、移植細胞由来のニューロンの一部は移植後ホスト脊髄内において分化したものであることが証明された。さらに、移植細胞由来のニューロンの髄鞘化と、移植細胞由来のニューロンとホストニューロンの間にシナプス形成が認められた。運動機能評価では対照群に比し、移植群で有意な改善がみられた。

審査では、まず機能評価の時期について質問された。これに対し、本研究においては移植後５週目でのみ行ったと回答された。しかし、移植後５週目に損傷組織の充分な組織再生が得られるのかと指摘された。さらに機能評価を他の時期にも行うことで、機能回復の機序について、より詳細に検討が加えられると指摘された。また運動機能評価法について、機能改善の機序を検討するためには感覚機能を独自に評価する方法、例えば体性感覚誘導電位を用いるべきではなかったかと指摘された。いずれも検討すべき重要な点であり、今後、検索を進めていくと回答された。次に移植細胞がニューロンに分化した後、ホスト脊髄内でどのように機能しているのかについて質問された。本実験では損傷モデルが圧挫損傷モデルのためトレーサー実験は難しく検討していないと回答された。最後に内因性の神経幹細胞による組織再生の可能性について質問された。これに対し、脊髄では大脳とは異なり、損傷後に賦活化される内因性の神経幹細胞はニューロンに分化しないこと、未分化なオリゴデンドロサイトは出現するが成熟しないことなどから、その応用は困難ではないかと回答された。

以上のように、本研究はさらに検討されるべき課題は残しているものの、中枢神経系神経幹細胞を含む胎児脊髄由来培養神経系前駆細胞を損傷脊髄内に移植することで、損傷部にニューロンを含む神経系細胞を新たに導入することができ、運動機能が改善することを確認した点で有意義であると評価された。

論文審査担当者　主査　整形外科学　戸山　芳昭
　外科学　河瀬　斌　　解剖学　仲嶋　一範
　内科学　福内　靖男　リハビリテーション医学　千野　直一
学力確認担当者：北島　政樹、河瀬　斌
　審査委員長：河瀬　斌

試問日：平成14年11月20日