

(様式3号)

学位論文の要旨

氏名 中津 宏基

〔題名〕

小腸粘膜下層 (SIS) を用いたラット胃壁再生における、
間葉系幹細胞併用の有効性の検討

〔要旨〕

ブタ小腸粘膜下層 (small intestinal submucosa; SIS) は、細胞増殖因子を含有する細胞外基質を主体とする吸収性バイオマテリアルであり、我々はラット胃壁全層性欠損モデルにてSISを用いた胃壁再生を検討し、正常組織と類似の反応性を見出してきた。消化管のような三次元の臓器再生には、再生の足場となるマトリクスが必要であり、SISは消化管再生に適した素材であるとの認識に至っている。また近年、多分化能および自己複製能を有する組織幹細胞の存在が明らかにされており、修復・再生の起源として期待される。そこで我々は、SISに骨髄間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell; MSC) を併用することで、さらに有効な胃壁組織再生が得られるか、検討を行った。

GFP (green fluorescence protein) ラットの骨髄液を採取して間葉系幹細胞培養を行った。Sprague-Dawleyラット胃壁に全層欠損を作成し、その修復モデルとして、SIS単独修復 (group 1; control)、SIS単独修復に加えMSCを経静脈投与 (group 2)、MSCをSIS上で培養したMSC-SISでの修復 (group 3)、MSCをシート状に回収しSISに挟み込んでの修復 (group 4)、の4群を作成した。オーガンバス法を用いてin vitroでの生理的な機能再生を検討し、免疫染色にて組織評価を行った。

ムスカリン受容体アゴニストや一酸化窒素前駆体による薬物刺激、また電気刺激 (electrical field stimulation) による反応性が、4群ともに正常胃壁と類似して確認された。組織学的検査により、MSCを直接併用するgroup 3, 4モデルでは、直接併用のないgroup 1, 2モデルに比して、整然と配列した平滑筋を多く認め、平滑筋再生に寄与している可能性があると考えられた。また、MSC直接併用モデルgroup 3, 4では再生部の間質にGFP陽性組織を認め、その一部に繊維芽細胞様の形態を確認した。

MSCをSISに直接併用することにより、体系化された組織再生の環境を整える役割を担っている可能性が考えられた。

学位論文審査の結果の要旨

医学系研究科応用分子生命科学系 (医学系)

報告番号	甲 第 1332 号	氏 名	中津 宏基
論文審査担当者	主査教授	伊藤 浩史	
	副査教授	坂井 功	
	副査教授	岡 正朝	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
小腸粘膜下層 (SIS) を用いたラット胃壁再生における、間葉系幹細胞併用の有効性			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Influence of Mesenchymal Stem Cells on Stomach Tissue Engineering using Small Intestinal Submucosa (小腸粘膜下層 (SIS) を用いたラット胃壁再生における、間葉系幹細胞併用の有効性)			
掲載雑誌名 Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine 第 卷 第 号 P. ~ (2013 年 月 掲載・掲載予定)			
(論文審査の要旨)			
<p>ブタ小腸粘膜下層 (small intestinal submucosa; SIS) は、細胞増殖因子を含有する細胞外基質を主体とする吸収性バイオマテリアルであり、我々はラット胃壁全層性欠損モデルにて SIS を用いた胃壁再生を検討し、正常組織と類似の反応性を見出してきた。しかし、平滑筋再生に関して、より良好な再生が望まれた。近年、多分化能および自己複製能を有する組織幹細胞の存在が明らかにされており、修復・再生の起源として期待される。そこで、SIS に骨髄間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell; MSC) を併用することで、さらに有効な胃壁組織再生が得られるか、検討を行った。</p> <p>GFP (green fluorescence protein) ラットの骨髄液を採取して間葉系幹細胞培養を行った。Sprague-Dawley ラット胃壁に全層欠損を作成し、その修復モデルとして、SIS 単独修復 (group 1)、SIS 単独修復に加え MSC を経静脈投与 (group 2)、MSC を SIS 上で培養した MSC-SIS での修復 (group 3)、MSC をシート状に回収し SIS に挟み込んでの修復 (group 4)、の 4 群を作成した。オーガンパス法を用いて in vitro での生理的な機能再生を検討し、免疫染色にて組織評価を行った。</p> <p>ムスカリン受容体刺激薬や一酸化窒素前駆体による薬物刺激、また電気刺激による反応性が、群間に有意差はないものの、4 群ともに正常胃壁と類似して確認された。組織学的検査により、MSC を直接併用する group 3,4 モデルでは、直接併用のない group 1,2 モデルに比して、整然と配列した平滑筋が有意に厚く、平滑筋再生に寄与している可能性があると考えられた。また MSC 直接併用モデル group 3,4 では、再生部の平滑筋ではなく、間質に GFP 陽性組織を認め、その一部に繊維芽細胞様の形態を確認した。</p> <p>MSC を SIS に対して直接併用することにより良好な平滑筋再生が得られた。MSC は組織再生の環境を整える役割を担っていると考えられた。</p> <p>本研究は、SIS を用いた消化管再生において、細胞ソースとしての MSC を併用することの有用性を明らかにした論文である。よって学位論文として価値あるものと認められた。</p>			
備考 審査の要旨は800字以内とすること。			