

学 位 論 文 要 旨

研究題目

Isolation and Characterization of Cerebellum-Derived Stem Cells in Poststroke Human Brain

(ヒト小脳梗塞巣から誘導される幹細胞の単離、及び特性の解明)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻 高次神経制御系

脳神経外科学 (指導教授 吉村 紳一)

氏名 別府 幹也

背景

脳梗塞により損傷した神経に対する根本的な治療法は存在せず、リハビリテーションによる神経脱落症状の改善効果も限定的である。また、脳梗塞は大腦だけではなく小脳にも発症するが、小脳梗塞の動物モデルの作成は困難であり、その基礎研究は進んでいない。

目的

当大学の中込らはマウス脳梗塞モデルにおいて脳梗塞病態時に特異的に誘導され、自己複製能かつ多分化能を持ち、神経に分化し得る幹細胞 (injury-induced multipotent stem cells: iSCs) を発見した。我々は中込らとの共同研究により脳梗塞患者の梗塞巣 (大腦) から iSCs を単離することに成功した。本研究では、(1)小脳梗塞においても小脳由来 iSCs が誘導されること、(2)誘導された iSCs の特性について詳細な検討を行うことを目的とした。

方法

救命目的で内減圧術が必要となった患者の小脳梗塞組織を用いて研究を行った。本研究は兵庫医科大学倫理審査委員会での承認後に行った (承認番号 第 1776 号)。小脳梗塞サンプルから iSCs の単離培養を行い、免疫組織化学染色、PCR、DNA microarray による遺伝子解析等を用いて、その細胞特性を検討した。また、得られた小脳由来 iSCs の細胞特性を、他の様々な幹細胞と比較検討した。さらに、iSCs が脂肪、軟骨、骨のみならず、電気生理学的に機能的な神経にも分化する多能性を有するか否かを検討した。

結果

ヒトの小脳梗塞組織からも iSCs を単離することに成功した。iSCs は様々な多能性幹細胞マーカーを発現しており、脂肪、軟骨、骨のみならず、機能的な神経に分化することを確認した。免疫組織化学染色と PCR の結果、小脳 iSCs は幹細胞マーカーのみならず、ペリサイトマーカーを発現することが分かった。DNA microarray の結果、小脳 iSCs は胎児期のペリサイトと類似した特性を持つことが明らかになった。また、小脳 iSCs は大腦 iSCs と類似した遺伝子発現パターンを示す一方で小脳特異的な遺伝子を強く発現していることが判明した。さらに、Single cell 由来の小脳 iSCs からも機能的な神経に分化することを確認した。

結語

iSCs はヒト小脳梗塞巣に存在し、機能的な神経に分化する多能性幹細胞であった。小脳 iSCs はペリサイト由来であると考えられ、大腦 iSCs と類似した細胞特性を有するが、小脳固有の特性も有していた。小脳由来の iSCs は、脳梗塞をはじめとした様々な小脳疾患の細胞治療の source として利用できる可能性があると考えられた。