



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ラット放射線性直腸炎モデルに対するヒト羊膜由来間葉系幹細胞投与の効果 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	大野, 正芳
Description	配架番号 : 2197
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12093号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61561
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Masayoshi_Ono_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 大野 正芳

審査担当者	主査	教授	荒戸 照世
	副査	教授	近藤 亨
	副査	教授	豊嶋 崇徳
	副査	准教授	本間 明宏

学 位 論 文 題 名

ラット放射線性直腸炎モデルに対するヒト羊膜由来間葉系幹細胞投与の効果
(Effect of human amnion-derived mesenchymal stem cell transplantation in rats with radiation proctitis)

放射線性直腸炎には早期障害と晩期障害があるが、晩期障害を発症すると不可逆である。現在の治療法では、いずれも再発を繰り返し難治性であることも多く、十分な治療効果を得ているとは言い難いのが現状である。一方、世界中で再生医療に帯する期待が高まっており、その中でも間葉系幹細胞(MSC; mesenchymal stem cell)は、多分化能があり、多くの組織に存在するため、有用な細胞ソースとして様々な研究が行われている。現在、MSC 移植治療を行う際は、多くは骨髓由来 MSC が用いられているが、採取の際、身体への侵襲を伴う上に、一度で得られる細胞数は限りがある。一方、ヒト羊膜には非常に豊富な MSC が含まれていることが知られており、より若い細胞を一度に大量に獲得できるという利点を持つ。本研究は、ラット放射線性直腸炎モデルに対する羊膜由来 MSC(AMSC: amnion-derived MSC)投与の治療効果を示し、さらに病態改善のメカニズムや AMSC の抗炎症効果の機序を明らかにしたものである。

上記の学位論文に対する審査にあたり、まず副査の近藤教授から骨髓由来 MSC と羊膜由来 MSC の違いについて質問があった。学位申請者は骨髓由来 MSC と比較し羊膜由来 MSC はプロスタグランジン E2 が多く、T-cell の分化、増殖の抑制も強く作用する点が異なると回答した。また遺伝子発現のプロファイルの違いについて質問があり、両者に違いはないと回答した。さらに HEK293 細胞を用いた Reporter gene assay 法による p53 転写活性は、Control と放射線群の非常に差が小さいため、p13-luc が確実にトランスフェクトされているかとの指摘を受けたが、申請者は、有意差があるため効果があったと考えていると返答した。副査の本間准教授からは晩期障害に対しての効果は検討していないかとの質問があり、申請者は、まず晩期障害モデルを作ることが難しいこと、さらに早期障害に対して治療することが、晩期障害に効果的だというメタ解析結果があることを根拠に今回の実験を行ったと返答した。副査の豊嶋教授から vitro 実験の methods をもう少し詳細を記載するようにとの指導があり、申請者は修正する旨を返答した。また脱落膜由来の MSC を用いている施設があり、その違いについて質問があったが、申請者は脱落膜由来 MSC については不明であるが、羊膜の緻密層に多くの MSC が存在し、より多くのプロスタグランジン E2 が含まれていることが判明しているため、脱落膜を含む卵膜をそのまま

使用するよりも、羊膜だけで使用したほうが効果的であることが考えられると回答した。また適切な継代の回数についても質問があり、申請者は採取したばかりの羊膜 MSC は上皮などの不純物を含んでいるために純度は90%程度であること、また過去の羊膜由来MSCの検討により5継代以上の継代を行うと形態変化、分化能が落ちてくるため、大体3-5継代のものを使用していると回答した。最後に主査の荒戸教授から晩期障害と早期障害の関連性について、早期障害が起こった症例のうち、どのような症例が晩期障害になるのかとの質問があり、申請者は、基本的にはどの症例が早期障害から晩期障害に移行するかはよくわかっていない、しかしながら直腸は60Gy照射で5年以内に5%、80Gyだと50%晩期障害が起こるため、照射量が多いものは、より注意が必要であると回答した。さらに荒戸教授からは、もし人にMSC投与を行うとした場合、どの時点で投与するのが適切と考えるかとの質問があった。申請者は、もし羊膜由来MSCが大量に作成でき安価であるのであれば、早期障害が起こった時点で、予防的投与を行うことが考慮され、さらには将来MSCの中のどの成分、因子が抗炎症作用を発揮するかが判明すれば、それを直接投与することも考えられると回答した。以上について、必要に応じて学位論文に追加、修正を加えることを指導して、学位審査は終了した。

この論文は、国際学会での発表、また海外の学術論文にも掲載されており、羊膜由来MSCの放射線性直腸炎に対する効果が初めて報告されたことが高く評価できる。また、羊膜由来MSCが有用な細胞ソースであることが明らかになり、今後、放射線性直腸炎を含めた難治性疾患に対し臨床応用されることが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。