



Title	神経幹細胞の足場としての高分子ハイドロゲルの解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	谷川, 聖
Description	配架番号 : 2391
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13012号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70527
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Satoshi_Tanikawa_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 谷 川 聖

	主査	教授	佐々木 秀 直
審査担当者	副査	教授	宝 金 清 博
	副査	教授	久 住 一 郎
	副査	教授	佐 邊 壽 孝

学 位 論 文 題 名

神経幹細胞の足場としての高分子ハイドロゲルの解析
(Analysis of hydrogel function as a scaffold for neural stem cell)

申請者は、中枢神経における組織工学の足場となる高分子ハイドロゲルを開発する目的で、細胞接着に関わるとされる基質表面の電位の異なるゲルを作製し、神経幹細胞の接着性や分化への影響を検討した。ゼータ電位の異なる 6 種類のゲルを作製し、その他の物性として接触角、含水率、膨潤率、ヤング率を測定した。次に神経幹細胞との接着実験を行い、正、負のモノマーを 1:1 の割合で重合した中性 (S1A1) ゲルにおいて神経幹細胞が接着し胞体が伸長することが確認された。分化の変化について、中性 (S1A1) ゲルに接着した神経幹細胞は従来の培養法であるオルニチン、フィブロネクチンをコーティングしたポリスチレン培養皿と比べてアストロサイトへの分化が亢進し、オリゴデンドロサイトへの分化が抑制されることが real-time PCR、Western blotting、蛍光免疫染色で確認された。またアストロサイトへの分化については Jak/Stat 経路の亢進が関与し、オリゴデンドロサイトへの分化に関しては olig2 の発現低下の関与が示唆された。さらに中性 (S1A1) ゲルは脳内で急性の炎症を惹起しないことを確認した。以上の結果から、中性 (S1A1) ゲルは組織工学における中枢神経の足場となる可能性が示唆された。

副査の佐邊教授から、ネットワークを構築するような中枢神経の欠損部に神経幹細胞を入れて如何程の効果があるのか既に知られているのかという質問に対して、申請者は現在ネットワークの再構成による機能改善は現在のところ報告が無いがこれからの技術であると回答した。治療はマウスではなくヒトに対して行うものなので生物学として実験を進めたいのであれば良いが、治療応用を目的としているのであればヒトの iPS 細胞で同様の実験を行うべきとの指摘に対して、申請者はその通りで、治療応用を目指しているが実際に実用化はまだまだ先の話で初期の検討として行っている、と回答した。また副査の久住教授はこの実験は細胞の生着を良くするための物質を検討しているという理解で良いのか、本検討は in vitro の結果であり実際 in vivo での結果とはまだ距離があるように思えるという意見に対して、申請者は生着や生存率、突起の伸長を改善するための物質という理解で間違いなく、本検討では in vitro の実験までしか出来ていないので、今後脳挫傷モデルのマウスなどを利用して in vivo での動態を検討していく必要がある、と回答した。またオリゴデンドロサイトへの分化が抑制されることのメリット・デメリットについてどう考えるかという質問に対して、申請者は白質領域ではオリゴデンドロサイトが多く皮質では少ないので部位による使い分けなどが使いみちとしてある、と回答した。副査の宝金教授

は外科的な観点から治療のモデルとして例えばゲル上でシート状に播種した細胞シートを欠損部に移植するという考え方なのかという質問に対して、シート状は考えておらず、欠損部に対してゲルと細胞成分を充填させることで例えば脊髄断裂であれば足場が突起の伸長を促し再度シナプスを形成することで機能改善を目指すといった方向性で考えていると回答した。また臨床応用の観点から神経幹細胞は患者さんから採取するのが困難なので細胞腫としては間葉系幹細胞細胞を用いた方が今後の応用化が進みやすいという意見に対して、申請者は臨床応用がまだまだ先の話ということは自覚しているが、細胞腫についても今後の検討課題としたいと回答した。主査の佐々木教授からはこの培養系を用いて神経組織の層構造など複雑な組織を構成することがどこまで可能となるのかという質問に対して、難しいことは理解していて、最近の報告だと 3D プリンタでの再構成なども行われていて、より高度な技術を要すると考える、と回答した。また足場であるゲルに神経細胞の接着を促す因子として特定の分子の関与を想定しているのかという質問に対して、申請者は Pull-down アッセイでは特定のタンパク質が検出されなかったが、何かしらのタンパク質が関与していると考え、と回答した。

この論文はパイロット実験ではあるものの基盤研究としては重要であり、新たな足場候補を開発し、分化の違いと安全性を検討したことにおいて高く評価された。本研究は今後の神経再生の実用化に向けての展開が期待される。

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。