



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ラット脊髄損傷モデルにおける急性期FTY720投与の治療効果および亜急性期BMSC細胞シート硬膜下投与の治療効果の検証 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	山崎, 和義
Description	配架番号 : 2562
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14096号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78300
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kazuyoshi_Yamazaki_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 山崎 和義

	主査	教授	神谷	温之
審査担当者	副査	准教授	矢部	一郎
	副査	教授	岩崎	倫政
	副査	教授	石田	晋

学 位 論 文 題 名

ラット脊髄損傷モデルにおける急性期 FTY720 投与の治療効果
および亜急性期 BMSC 細胞シート硬膜下投与の治療効果の検証

(Verification of therapeutic effects of acute FTY720 administration and
subacute BMSC cell sheet subdural administration in rat spinal cord injury
model)

脊髄損傷治療における新たな可能性の探索を目的に、ラット中等度脊髄モデルを用いて急性期 FTY720(フィンゴリモド)の治療効果と、亜急性期の骨髄間葉系幹細胞シート治療の効果を検証した研究である。両治療で共に良好な運動機能改善効果に加えて、感覚障害改善効果の可能性について検討されているという点で興味深く、脊損治療の総合的な治療方針新確立に向けて、新たな可能性を見出している点で意義があると考えられる。

審査にあたり、まず副査の矢部准教授から、FTY720 の投与量が実際に臨床での使用を考える上で、どの程度の量に相当するのか、副作用は懸念されないかという指摘があり、申請者は現在多発性硬化症に適応が認められている 1 回投与量より高濃度となるため更なる検証が必要にはなるが、今回の実験では明らかな副作用は確認できなかったと回答した。さらに、HTT 染色の結果の解釈と治療が直接下降性疼痛抑制系に作用したかどうかについての質問があり、脊損急性期の 2 次損傷の進行が抑えられて下降性疼痛抑制系線維も保たれたと思われ、FTY が直接的に下行性疼痛抑制系に働きかけたという証明は今回の実験では行えていないと回答した。また、細胞シートをストック化と MHC class1 を合わせることで、ある程度自家移植に近い形で急性期から亜急性期にかけても細胞投与が可能となるのでは無いかという質問に対しては、有効な方法になる可能性が十分に考えられるが、シートの冷凍後再解凍した後の細胞生存率については検証できていないため、治療効果が劣る可能性は否定できないと回答した。

続いて主査の神谷教授から、将来的に自家移植を想定している場合に、自家細胞が亜急性期に移植可能となる見込みや、現段階でその実現に向けて具体的な方法論についての質問

があり、亜急性期投与実現に関してはかなり難しいが、より効率的な培養条件を検証し細胞増殖を誘導する研究を行う方法が考えられると回答した。また、ヒトへの幹細胞シートの投与でラット同様に細胞浸潤が期待できるかという質問には、実際の細胞移植治療における細胞遊走を参考にすると、期待は十分できると考えられると回答した。さらに、トレーサーを用いた軸索評価で、残存した軸索と再生された軸索の区別をしたかの確認と区別する方法論についての質問には、移植細胞が関与した場合は GFP 細胞のため蛍光染色で区別できる可能性があるが、非移植細胞の再生についての区別は想定していなかったため、方法は未確認と回答した。さらに、S1P レセプター細胞の発現状況についての質問には、リンパ球におけるこのレセプターを内在化させることで機能的なアンタゴニストとして働いていると回答した。さらに、細胞シートに BMSC を選択するメリットについての質問には、採取と培養までが他の細胞に比べて簡便（シート化の成功率などの比較は行っていないが）で、高い栄養因子分泌力が期待されるメリットが考えられると回答した。

次に、副査の岩崎教授からは、他家移植の検証の選択肢についての質問があり、申請者は今後その選択肢も実験で検討した方が良いと思われるが、長期的な細胞生着率が自家移植の方が高い可能性を考慮し今回のモデルを選択することになったと回答した。また、幹細胞移植治療で運動機能回復時期が遅いのは細胞生着の作用がメインだからかという質問に対し、細胞を移植するまでは 2 次損傷が通常通り進行していたことで、脊損が重症化し治療効果の遅れに反映された可能性が高いのと、移植細胞の栄養因子分泌が局所の環境を改善した役割も大きいものと考えていると回答した。

続いて、副査の石田教授からは FTY の炎症抑制作用とグリオシス抑制作用の関連について質問があり、炎症抑制が 2 次損傷抑制につながりグリオシスそのものが小さくなる機序に加えて、FTY の直接的なアストロサイト S1P レセプター作用がアストログリオシスの形成を妨げるという相乗効果が働いていると考えられると回答した。次に、FTY 治療や細胞移植治療の炎症性サイトカイン産生抑制の機序についての検証でわかっていることの質問があり、過去に各種の炎症性サイトカイン産生抑制の報告は散見されるが、今回の実験で具体的な検証はできておらず、現段階で個々のサイトカインの動きについての知識は有していないと回答した。

本研究は、ラット脊髄損傷モデルに対する急性期ならびに亜急性期の新規治療法の有効性を示した点において高く評価され、今後の脊髄損傷に対する治療戦略の進歩に貢献す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。