

ふ り が な 氏 名	かくどう ともき 覚道 知樹
学 位 の 種 類	博士（歯学）
学 位 記 番 号	甲 第 822 号
学位授与の日付	平成 30 年 3 月 9 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学 位 論 文 題 目	Functional recovery by application of human dedifferentiated fat cells on cerebral infarction mice model （マウス脳梗塞モデルにおけるヒト脱分化脂肪細胞による機能回復）
学 位 論 文 掲 載 誌	Cytotechnology
	平成 年 月 日
論 文 調 査 委 員	主 査 百田 義弘 教授 副 査 森田 章介 教授 副 査 今井 弘一 教授

論文内容要旨

脳血管障害により QOL が低下した高齢者では、誤嚥性肺炎による死亡率の増加が懸念され、脳血管障害に対する有効な治療法を確立することは重要と考えられる。近年、脳梗塞治療において幹細胞を用いた神経再生療法が注目されている。今回、ヒト頬脂肪体から単離した成熟脂肪組織より脱分化脂肪細胞（Dedifferentiated fat cells:DFAT）をマウス脳梗塞モデルに移植し、脳梗塞に対する形態的、機能的回復を評価した。

インフォームドコンセントを得た成人女性から頬脂肪体を採取し、天井培養法を用いて DFAT を単離した。実験 1: DFAT を 12 well dish plates に播種し、培養した DFAT を nestin, Sox2, CD45 抗体を用いて免疫化学染色を行った。実験 2: フローサイトメトリーにより DFAT 細胞表面抗原を分析した。実験 3: DFAT を neural conditioned medium を用い分化誘導させた後、TuJ1 抗体を用い免疫化学染色を行った。実験 4: マウス脳梗塞モデルを作成し、脳梗塞発症 2 日後にラベリングした DFAT を静脈内投与し、翌日、DFAT の各臓器への分布を観察した。実験 5: 脳梗塞 2 日後に 3 継代目の DFAT をマウス脳梗塞モデルの尾静脈より静脈投与し、4 週間後に行動テストを行った。行動テスト結果は分散分析を ANOVA で、多重比較は LSD にて統計解析を行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

その結果、DFAT は線維芽細胞様の細胞形態を有し、組織免疫化学染色では nestin, Sox2 の発現を認めたが、CD45 の発現は認めなかった。フローサイトメトリーにおいても間葉系幹細胞に類似した細胞表面抗原マーカーの発現を認めた。DFAT は神経分化誘導によりニューロスフェアの形成を認め、樹状様突起を有する細胞に分化し TuJ1 陽性細胞であった。DFAT 移植後のマウスにおいて、脳、肺、肝臓、

脾臓に分布することが確認され、4週間の行動テストにおいて機能的回復が観察された。

ヒト由来 DFAT は間葉系幹細胞に類似する性質を有し神経幹細胞マーカーを発現した。神経分化誘導することでニューロスフェアを形成し、神経細胞マーカーの発現が観察された。マウス脳梗塞モデルへの DFAT 投与では、梗塞領域の軽減効果は認められなかったが、行動テストにおいて感覚、情動の改善が認められ、DFAT を用いた細胞移植は脳梗塞巣における神経再生機転の一因として有用であると考えられた。

論文審査結果要旨

本論文は、ヒト頬脂肪体から単離した成熟脂肪組織より脱分化脂肪細胞 (Dedifferentiated fat cells : DFAT) をマウス脳梗塞モデルに移植し、脳梗塞に対する形態的、機能的回復を評価したものであり、細胞移植後、マウス脳梗塞巣内においてヒト由来 DFAT は間葉系幹細胞に類似する性質を有する神経幹細胞マーカーの発現を示した。また、ヒト由来 DFAT を神経分化誘導することでニューロスフェアを形成し、神経細胞マーカーの発現が観察された。マウス脳梗塞モデルへの DFAT 投与により、行動テストにおいて感覚、情動の改善が認められた。

以上、これらの研究結果から DFAT を用いた細胞移植は、脳梗塞巣における神経再生機転の一因として有用であることを証明した点において、本論文は博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。