

論文の内容の要旨

氏名：中山 洵 志

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：ラット椎間板変性モデルに対する脱分化脂肪細胞（DFAT）移植の治療効果

【目的】Matumotoらは脱分化脂肪細胞（Dedifferentiated fat cell:DFAT）が高い増殖能と間葉系幹細胞（Mesenchymal stem cell:MSC）に類似した多分化能を有していることを明らかにした。今回、人工的に椎間板変性を生じさせたラットの椎間板にDFATを移植し、椎間板高の定量および変性した椎間板組織の再生能が促進されるかについて検討を行った。

【方法】体重約300gの雄性Sprague-Dawley（SD）ラットに対し、X線透視装置を用いて椎間板高を測定した後、椎間板組織Co11/Co12およびCo13/Co14を21G針にて透視装置下で経皮的椎間板穿刺を行い、椎間板変性モデルを作製した。穿刺1週間後にCo11/Co12およびCo13/Co14にDFAT（ $5 \times 10^4 / 50 \mu\text{l}$ Phosphate buffered saline (PBS), DFAT群, n=13）または同量のPBS（Control群, n=13）を注射した。移植後、経時的にX線撮影を行い、椎間板傷害前に対する傷害後の椎間板高の比率（%DHI）を算出し、両群を比較した。また、移植4週間後、8週間後に尾椎の切片標本を作製し、Hematoxyline&Eosin（HE）染色、髄核細胞の特異的表面マーカーであるCD24に対する免疫染色にて組織学的評価を行った。また移植したDFATの局在、髄核細胞への分化の有無を検討するため、SDラットCo11/Co12およびCo13/Co14に対し椎間板穿刺処理を行い、1週間後にGreen fluorescent protein（GFP）ラベルしたDFAT（ $5 \times 10^4 / 50 \mu\text{l}$ PBS）を傷害椎間板内に注射した。移植4、8週後に尾椎を摘出し、凍結切片を作製した。切片は抗GFP抗体および抗CD24抗体を用いた蛍光免疫染色を行い、組織学的所見により椎間板細胞の再生能および増殖能について評価した。

【結果】Control群と比較してDFAT群ではX線学的には椎間板高の減少が抑えられた。また、病理組織学的には両群とも髄核構造は消失し、結合組織に置き換わっている所見が認められた。DFAT群の一部では椎間板辺縁に、髄核様細胞集団が認められた。GFP標識DFATを傷害椎間板に移植した結果、移植4週間後および8週間後の検体において、椎間板辺縁に出現した髄核様組織には、CD24、GFP二重陽性を示す細胞が多数認められた。

【考察および結論】変性椎間板に対するDFATを用いた細胞移植治療は、椎間板高の変性が抑制され、DFATの一部は髄核細胞への形質転換が生じていることが明らかになった。これらの結果より、DFATを用いた細胞移植治療は椎間板再生の有効な治療となる可能性が示唆された。