

## 論文審査の結果の要旨

氏名：宮 方 啓 行

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：受動喫煙によるラット椎間板変性モデルに対する脱分化脂肪細胞(DFAT)移植の効果

審査委員：(主査) 教授 長 岡 正 宏

(副査) 教授 湯 澤 美 都 子 教授 相 澤 信

教授 高 橋 悟

腰痛の原因は多種にわたるが、椎間板変性はその一因として重要である。本研究は受動喫煙ラット椎間板変性モデルを用いて DFAT の静脈投与による椎間板変性の抑制効果の有無を検討したものである。

Sprague Dawley ラットを DFAT 群、PBS (Phosphate buffered saline)群、Control 群の 3 群に分け、DFAT 群、PBS 群は受動喫煙装置を用いて 8 週間の受動喫煙を行った。DFAT 群は喫煙下に DFAT  $1 \times 10^6$  個/0.5ml を 2 週間ごとに静脈内投与し、PBS 群は喫煙下に PBS 0.5ml を 2 週間ごとに静脈内投与した。Control 群は非喫煙、非投与下で 8 週間飼育した。実験開始 8 週間後に椎体を摘出し、尾椎は組織切片標本を作成し組織学的評価を行った。腰椎椎間板からは髓核を摘出し、髓核内プロテオグリカン量を測定すると共に、軟骨関連遺伝子の mRNA 発現をリアルタイム RT-PCR 法にて測定した。さらに肺組織から total RNA を抽出し、免疫制御関連遺伝子 HGF、PGE2、TSG-6、TGF- $\beta$  1 の mRNA 発現をリアルタイム RT-PCR 法を用いて測定した。

組織学的検討において、喫煙処理を行った PBS 群は、Control 群に比べ髓核組織の細胞密度の減少が認められた。DFAT 群は PBS 群と比較して椎間板の変性程度が軽度であった。髓核内のプロテオグリカン量は Control 群と比較して PBS 群で 50%以上の低下を認めた。一方 DFAT 群は PBS 群に比べプロテオグリカン量の減少が抑制される傾向を認めた。髓核内のアグリカンと Sox9 の遺伝子発現量は、Control 群と比較して PBS 群で有意に減少していた。さらに、DFAT 群は PBS 群と比較しアグリカンと Sox9 の遺伝子発現量の減少が有意に抑制された。肺組織の遺伝子発現解析では、DFAT 群は PBS 群と比較して免疫制御関連遺伝子である HGF と PGE2、TSG-6 の発現量が有意に高値であった。

これらの結果より、受動喫煙ラット椎間板変性モデルに対し DFAT 静脈内投与は椎間板変性を抑制する作用があることが明らかになった。また DFAT の椎間板変性抑制メカニズムとして肺組織からの免疫制御因子の発現、分泌が関与している可能性が示唆された。従って、本研究により DFAT 静脈内投与は椎間板変性症に対する細胞治療ソースとして有望であることを示した。

よって本論文は、博士（医学）の学位を授与されるに値するものと認める。

以 上

平成 28 年 2 月 17 日