

氏名	いしばし なおや 石橋 直也
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成25年9月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	間葉系幹細胞投与による肺移植後急性拒絶反応抑制効果の検討
論文審査委員	主査 教授 近藤 丘 教授 齋木 佳克 教授 黒澤 一

論文内容要旨

本研究はヒト間葉系幹細胞 human Mesenchymal Stem Cell(hMSC)を用いて、ラット左片肺移植後における急性拒絶反応の抑制効果を検討したものである。

肺移植後は終末期呼吸器疾患に対する有効な治療方法として確立しているが、術後生存率は他の臓器移植と比較し未だ満足し難い。主な原因として、急性・慢性拒絶反応や感染症の頻度が他の臓器移植と比べ高いことが挙げられる。また、MSCは再生医療の分野で盛んに研究され、様々な細胞への分化能や抗炎症・免疫抑制作用を発揮することが報告されており、間葉系幹細胞を骨髄移植後のGVHDや炎症性腸疾患などに対して用いる試みも報告されている。筆者はこの点に着目し、ラットの左片肺移植モデルを用いてhMSCによる急性拒絶反応抑制効果を検討した。

実験群はPhosphate buffered Saline(PBS)を再灌流直後に投与するコントロール群、hMSCを再灌流直後のみに投与するhMSC1群、再灌流直後と術後3日目に投与するhMSC2群の3群に分けた。Hematoxylin-Eosin染色による拒絶反応のステージングと病理学的パラメータのスコアリング検討において、hMSC2群が拒絶反応のステージとリンパ球浸潤のスコアでコントロール群と比較し有意差を認めた。また、hMSC1群、2群において、コントロール群と比較し、浮腫と肺胞内出血のスコアにおいて有意差を認めた。

続いて、投与したhMSCの生体内で局在を検討するため抗ヒトMHC class I抗体を用いた免疫染色を非移植肺、移植肺、肝臓、脾臓で行った。非移植肺においてhMSCが血管周囲や肺胞壁に確認された。しかし、移植肺においてはhMSCを確認できるものの、リンパ球浸潤の影響で詳しい局在を検討することができず、肝臓と脾臓においてはhMSCの確認ができなかった。

(書式 1 2)

移植肺から抽出した cDNA を用いて Th1/Th2 サイトカインについて定量 RT-PCR を行ったところ、優位な差を認めることができなかったが、hMSC 投与群で TNF- α がやや低い傾向を認めた。また、移植肺内における TNF- α stimulated gene-6(TSG-6)発現を確認したところ、hMSC1 群、2 群で発現を認めた。これらの結果から、hMSC は MHC 完全不適合ラット片肺移植モデルにおいて TSG-6 をはじめとする各種物質により急性拒絶反応を抑制することが示唆された。

本研究は間葉系幹細胞である hMSC の肺移植分野における一定の役割を見出したものであり、独創性・新規性の点からも学位の基準を満たすものである。よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。

審査結果の要旨

博士論文題名.....間葉系幹細胞投与による肺移植後急性拒絶反応抑制効果の検討.....

所属専攻・分野名 医科学 専攻.....呼吸器外科学.....分野.....

氏名.....石橋 直也.....

本研究はヒト間葉系幹細胞 human Mesenchymal Stem Cell(hMSC)を用いて、ラット左片肺移植後における急性拒絶反応の抑制効果を検討したものである。

肺移植後は終末期呼吸器疾患に対する有効な治療方法として確立しているが、術後生存率は他の臓器移植と比較し未だ満足し難い。主な原因として、急性・慢性拒絶反応や感染症の頻度が他の臓器移植と比べ高いことが挙げられる。また、MSC は再生医療の分野で盛んに研究され、様々な細胞への分化能や抗炎症・免疫抑制作用を発揮することが報告されており、間葉系幹細胞を骨髄移植後の GVHD や炎症性腸疾患などに対して用いる試みも報告されている。筆者はこの点に着目し、ラットの左片肺移植モデルを用いて hMSC による急性拒絶反応抑制効果を検討した。

実験群は Phosphate buffered Saline(PBS)を再灌流直後に投与するコントロール群、hMSC を再灌流直後のみに投与する hMSC1 群、再灌流直後と術後 3 日目に投与する hMSC2 群の 3 群に分けた(各群 n=6)。Hematoxylin-Eosin 染色による拒絶反応のステージングと病理学的パラメータのスコアリング検討において、hMSC2 群が拒絶反応のステージとリンパ球浸潤のスコアでコントロール群と比較し優位に抑制された。また、hMSC1 群、2 群において、コントロール群と比較し、浮腫と肺胞内出血のスコアが優位に抑制された。

続いて、投与した hMSC の生体内で局在を検討するため抗ヒト MHC class I 抗体を用いた免疫染色を非移植肺、移植肺、肝臓、脾臓で行った。非移植肺において hMSC が血管周囲や肺胞壁に確認されたが、移植肺においては hMSC を確認できるものの、リンパ球浸潤の影響で詳しい局在を検討することができなかった。肝臓と脾臓においても同様に検索したが hMSC を確認できなかった。移植肺から抽出した cDNA を用いて Th1/Th2 サイトカインについて定量 RT-PCR を行い優位な差を認めることができなかったが、hMSC 投与群で TNF- α がやや低い傾向を認めた。また、移植肺内における human TNF- α stimulated gene-6(hTSG-6)発現を確認したところ、hMSC 投与群で発現を認めた。これらの結果から、hMSC は MHC 完全不適合ラット片肺移植モデルにおいて TSG-6 をはじめとする各種物質により急性拒絶反応を抑制することが示唆された。

本研究は間葉系幹細胞である hMSC の肺移植分野における一定の役割を見出したものであり、独創性・新規性の点からも学位の基準を満たすものである。よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。