

(様式4)

学 位 論 文 の 内 容 の 要 旨

(飯島 圭哉) 印

(学位論文のタイトル)

Transplanted microvascular endothelial cells promote oligodendrocyte precursor cell survival in ischemic demyelinating lesions

(移植脳微小血管内皮細胞は虚血性脱髄病変内におけるオリゴデンドロサイト前駆細胞の生存を改善する)

(学位論文の要旨)

脳梗塞は頻度が高い疾患であり、また後遺症が残るため世界的に問題となっている疾患である。脳梗塞はその虚血部位によって白質梗塞と皮質梗塞に分けて考えることができる。従来のごっ歯類を用いた脳梗塞モデルは皮質梗塞が主体であった。我々はラット白質梗塞モデルを作成し、白質梗塞の新たな治療法開発に向けて研究を行ってきた。これまでの研究において脳微小血管内皮細胞移植が白質梗塞に対する改善効果を有すること、またこの過程において病変内の血管数は増加しないことを発見した。今回の研究において、脳微小血管内皮細胞移植が白質梗塞を改善する過程においてオリゴデンドロサイト系譜の細胞に与える影響について解析・検討した。

方法としては、過去の研究で用いた実験系を踏襲し、8週齢オスSDラットの大脳左内包に定量的に血管収縮物質であるエンドセリン-1を注射し、大脳白質梗塞モデルを作成した。エンドセリン-1を注射後7日目に白質梗塞部位に血管内皮細胞を移植した。小動物用MRIを用いて生きている状態の動物における病変の体積変化を観察した。移植後3、7および14日目に組織学的解析を行った。得られた結果の機序を詳細に解析するため、脳微小血管内皮細胞の条件培地を用いてオリゴデンドロサイト前駆細胞の培養を行い細胞の動態を解析した。

MRIの解析では、脳微小血管内皮細胞移植は白質梗塞病変の体積を対照群と比較して有意に減少させることがわかった。これは以前の研究において組織切片の髄鞘染色で得られた結果を支持するものであり、さらに動物を生きたまま同一個体における病変の体積変化を観察している点において重要な結果であると考えられた。この結果と以前の結果を合わせて考えると、脳微小血管内皮細胞移植が虚血性脱髄病変の病態改善に寄与している可能性は極めて高いと考えられた。

MRI解析によって内皮細胞移植群と対照群の病変体積の誤差を少なくすることができた。この方法により得られた脳試料の組織学的解析を行った。まず髄鞘を抗原とする抗MBP抗体を用いた免疫染色を行い、虚血性脱髄病変における髄鞘の染色性の改善を再確認した。次にオリゴデンドロサイト前駆細胞のマーカーである抗NG2抗体を用いた免疫

染色を行うと、この白質梗塞・脱髄病変内においてオリゴデンドロサイト前駆細胞の細胞数が対照群と比較して有意に増加していることが示された。次いでKi67抗体を用いた免疫染色を行うと、オリゴデンドロサイト前駆細胞の増殖率は移植によって影響を受けていないことが確認された。最後にTUNELを用いたアポトーシス解析を行うと、脳微小血管内皮細胞移植群では対照群と比較してオリゴデンドロサイトのアポトーシスが有意に減少していることがわかった。しかしながら、成熟オリゴデンドロサイトの細胞数は2群において有意差なく、増加したオリゴデンドロサイト前駆細胞は直接成熟して再髄鞘化に寄与するのではなく、何らかの液性因子を介して脱髄している成熟オリゴデンドロサイトに作用し、病変の改善効果に寄与していることが考えられた。

組織免疫染色によって得られた結果を細胞培養において確認するために、脳微小血管内皮細胞の条件培地によりオリゴデンドロサイト前駆細胞を培養し、通常の培地で培養したオリゴデンドロサイト前駆細胞と動態を比較した。この結果、脳微小血管内皮細胞の条件培地によって培養されたオリゴデンドロサイト前駆細胞はアポトーシスが抑制されることがわかった。

これらの結果から、脳白質虚血性脱髄病変において脳微小血管内皮細胞移植は何らかの液性因子を介してオリゴデンドロサイト前駆細胞の細胞死を抑制し、増加したオリゴデンドロサイト前駆細胞はさらに何らかの液性因子を介して脱髄している成熟オリゴデンドロサイトに作用し、再髄鞘化を促進していると考えられた。

今後は脳微小血管内皮細胞が放出する分子の中で、オリゴデンドロサイト前駆細胞の細胞死を抑制する作用を持つものを同定し、新薬の開発につなげていく。また、脳微小血管内皮細胞が再髄鞘化を促進する過程においてオリゴデンドロサイト前駆細胞以外の細胞に与える影響についても多角的に解析・検討していく。