

(様式4)

学位論文の内容の要旨

(安井 奈々) 印

(学位論文のタイトル)

Morphological and Functional Attenuation of Degeneration of Peripheral Neurons by Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium in Spinocerebellar Ataxia Type 1-Knock-in Mice

(脊髄小脳失調症 I 型ノックインマウスに対して間葉系幹細胞由来液性因子が形態的にも機能的にも末梢神経変性を改善する)

(学位論文の要旨) 2,000字程度, A4判

脊髄小脳変性症 (Spinocerebellar degeneration ; SCD) は, 小脳皮質または小脳の求心路や遠心路に病変を有する変性疾患である. 小脳系以外の神経系統の変性も合併していることが多く, 症状がきわめて多彩となっている. 脊髄小脳失調症 I 型 (Spinocerebellar ataxia type1 ; SCA1) は, Ataxin-1のポリグルタミン配列 (CAGリピート) が異常伸張している常染色体優性遺伝性のSCDである. このモデルマウスであるSCA1ノックインマウス Ataxin-1[Q154]は, 脊髄を含む全身に異常伸長したポリグルタミンAtaxin-1を発現している. 5週齢以降から運動失調が顕著になり, 約40週齢で死亡する.

SCA1の治療法について考えたとき, 神経変性疾患に対する新しい治療法として注目されている間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cell ; MSC) の利用を考えた.

MSCは多分化能を持ち, 治療に用いても安全性が高いことが報告されている. また, MSCはHGF (hepatocyte growth factor), FGF - 2 (fibroblast growth factor - 2), IGF - 1 (insulin - like growth factor -1), VEGF (vascular endothelial growth factor) などさまざまな栄養因子を分泌することが知られている.

過去のMSCに関する報告には, MSCの移植によって, 神経変性疾患であるパーキンソン病モデルマウスや多発性硬化症患者に対して神経保護効果があるという報告がある. 脳卒中や脊髄損傷についても同様の報告がある. また, SCDに関していえば, SCD患者にMSCを移植したところ, 運動機能が改善し, 生活の質が向上したことが知られている. 上記のように, MSCを使用した治療実験はいくつかあるが, MSCが細胞や分子レベルでどのように治療効果をもたらしているのか分かっていない.

そこで私の所属する研究室では, マウスを使用して細胞レベルでMSCの効果を見てみることにした. マウス骨髄由来のMSCを脊髄小脳失調症 I 型トランスジェニックモデルマウス (Spinocerebellar ataxia type1 model mouse ; SCA1マウス) に髄腔内投与したところ, プルキンエ細胞の多重配列, 分子層の厚みの減少, プルキンエ細胞樹状突起の萎縮が抑制され, 神経細胞の構築および, 運動失調が部分的に改善した. また, MSCの髄腔内投与によってSCA1ノックインマウスの症状が改善した.

このようなMSCの効果は, MSCそのものの効果というよりも, MSCの特徴である液性因子を分泌することによる効果が優位に働いているのではないかと考えた. そこで, 本研究では, MSCが分泌する液性因子が神経細胞の形態および機能の改善と協調運動機能の障害の軽減をもたらすという仮説を証明することを目的とした. 評価は, ルクソルフアストブルー染色, 蛍光免疫組織染色, マウスの下肢に対する神経伝導速度検査, ローターロ

ッドテストによる行動解析を行った。

まず、間葉系幹細胞培養上清（Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium ; MSC-CM）をSCA1ノックインマウスに4週齢で髄腔内投与し、その後2週間おきに計10回MSC-CMを静脈内投与し、40週齢で末梢神経障害に対する治療効果を調べた。SCA1ノックインマウスでは脊髄前根の運動神経軸索およびミエリンの変性が認められている。本研究で、SCA1ノックインマウスに対しMSC-CMを投与したことから、形態面では運動神経軸索の変性とミエリンリングの直径の大小不同に改善が見られた。その結果として、機能面でもMSC-CMの投与によって潜時が短くなり、脊髄運動神経における神経伝導速度遅延に部分的な改善が見られた。

次に、MSC-CMの投与方法で治療効果に差があるのか調べるために、SCA1ノックインマウスに対してMSC-CMの髄腔内投与と静脈内投与をそれぞれ単独で行い、形態面と運動機能面に対する治療効果を比較した。髄腔内投与はSCA1ノックインマウスが4週齢のときに一度だけ行った。静脈内投与は4週齢から2週間おきに計5回行った。どちらの投与方法も、評価は13週齢で行った。結果は、どちらの投与方法も運動神経軸索とミエリンの変性に改善がみられており、形態面で治療効果が見られた。運動機能面では、静脈投与は数回の投与が必要なため髄腔内投与よりも侵襲性が大きく、運動機能を見るローターロードテストの結果に影響を与えている可能性がある。しかし、どちらの投与方法でも、コントロール群よりもMSC-CM投与群のほうがローラー上に長くとどまることができ、運動機能異常に改善が見られた。

以上のことから、SCA1ノックインマウスの末梢神経系における病態は、MSC-CMの投与によって形態的にも機能的にも部分的な改善が見られた。MSCの治療効果は、MSCが分泌するパラクリン作用を持つ栄養因子がもたらしている可能性がある。MSC-CMの投与方法は、髄腔内投与でも静脈内投与でも治療効果が見られた。しかし、一度投与するだけで済む髄腔内投与のほうが、数回投与しなければならない静脈内投与よりも侵襲性が少なく、安全であるかもしれない。将来的にSCA患者に対してMSC-CMを投与する際には、患者にとって負担の少ない投与方法を慎重に考える必要がある。