

申請者領域・氏名	機能再建・再生科学領域 脊椎脊髄病態修復学教育研究分野 氏名 陳俊輔
指導教授氏名	石橋恭之
論文審査担当者	主査 木村博人 副査 大山力 黒瀬顕

(論文題目) Immunohistochemical localization of mesenchymal stem cells in ossified human spinal ligaments
(脊柱靭帯骨化症における間葉系幹細胞の局在の免疫組織化学的検討)

(論文審査の要旨)

申請者は、脊柱靭帯骨化の発生機序に間葉系幹細胞 (MSCs) が関与することを明らかにするため、手術時に採取したヒト脊柱靭帯組織を用いて MSCs の局在ならびにその変化について免疫組織化学的に検討した。

黄色靭帯骨化症 (OLF) 患者から採取した骨化靭帯組織 6 検体、対照として非骨化靭帯組織 6 検体を用い、ホルマリン固定後、骨化靭帯組織は脱灰処理を行い、パラフィン切片を作製し、H-E 染色により組織学的評価を行った。次に、一次抗体として MSCs マーカー (CD73、CD90、CD105)、血管内皮細胞マーカー (CD31)、血管周皮細胞マーカー (α -SMA)、軟骨細胞マーカー (S100) を用い、MSCs マーカー相互と他のマーカーとの 12 通りの組み合わせにより二重蛍光染色を行った。蛍光顕微鏡を用い、靭帯組織における血管領域（特に内皮細胞層と周皮細胞領域）及び靭帯実質部、骨化靭帯組織の骨化前線領域における MSCs マーカーの発現を検討した。

その結果、対照群と比べ、OLF の靭帯実質部に多数の新生血管と血管周囲に MSCs の強い集積が認められ、CD31 陽性細胞には MSCs マーカーの発現を認めなかった。一方、血管周皮細胞領域では α -SMA 陽性細胞に MSCs マーカーの局在が認められ、骨化靭帯実質部における MSCs 数は対照群と比べ著明な増加を示した。また、骨化前線周囲では軟骨細胞が多数出現し、MSCs マーカーの発現が観察された。

以上より、骨化靭帯組織において MSCs が血管周皮細胞領域、靭帯実質部及び骨化前線に局在することが明らかとなった。また、OLF の靭帯実質部における MSCs の出現は対照群より高く、骨化前線周囲領域で、MSCs マーカーを発現する軟骨細胞が観察されたことから、脊柱靭帯骨化症に MSCs が関与する可能性が示唆された。

本研究は、骨化靭帯組織に MSCs が局在することと、脊柱靭帯骨化の発生機序に MSCs が関与する可能性を初めて明らかにしたものであり、学位授与に値する。

公表雑誌名	Biochemical and Biophysical Research Communications に掲載済み (Vol. 436 (2013) 698–704)
-------	---