

## 学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	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 新戸部 陽士郎
<p>(論文題目)</p> <p style="text-align: center;"><b>Neurotrophic Factor Secretion and Neural Differentiation Potential of Multilineage-differentiating Stress-enduring (Muse) Cells derived from Mouse Adipose Tissue</b></p> <p>(マウス脂肪組織由来 Muse 細胞の神経栄養因子分泌能と神経分化能についての検討)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p><b>【背景】</b></p> <p>Multilineage-differentiating stress-enduring (Muse)細胞は生体内に存在する造腫瘍性を持たない多能性幹細胞である。Muse 細胞は傷害部位に遊走し、複数の細胞種に分化することで障害組織を修復すると報告されている。Muse 細胞がヒト、ヤギ、ラビットから採取された報告はあるが、マウスから採取できるかは明らかではない。また細胞生存能や神経栄養因子分泌能、神経分化能は神経再生に重要とされているが、Muse 細胞の神経再生能は明らかではない。本研究の目的は、マウス脂肪組織から Muse 細胞を分離しその神経再生能を評価することである。</p> <p><b>【対象と方法】</b></p> <p>対象は 6 週齢の雌 C57BL/6 J マウスとした。Muse 細胞はマウス脂肪組織由来間葉系幹細胞 (MSCs) から Fluorescence-activated cell sorting (FACS) を用いて stage-specific embryonic antigen-3 (SSEA-3)陽性細胞として分離した。SSEA-3 陰性細胞は non-Muse 細胞として用いた。多能性幹細胞の評価はクラスター形成能、自己複製能、多能性マーカー (Nanog, Oct3/4, Sox2, SSEA-3)の発現、三胚葉への分化能を行った。神経再生能の評価は酸化ストレス下での細胞生存能、神経栄養因子である脳由来神経栄養因子 (BDNF)・血管内皮細胞増殖因子 (VEGF)・肝細胞増殖因子 (HGF)の分泌量、サイトカインによる分化誘導後の神経細胞マーカー (神経: Tuj-1、オリゴデンドロサイト: O4、アストロサイト: GFAP)陽性細胞・Ca イメージングによる機能評価を行った。検討項目は多能性幹細胞・神経再生能評価についての Muse 細胞と non-Muse 細胞との比較である。</p> <p><b>【結果】</b></p> <p>Muse 細胞はマウス脂肪組織由来 MSCs から 6.3%分離された。Muse 細胞はクラスター形成能を形成したが、non-Muse 細胞はクラスターを形成しなかった。クラスターを形成した Muse 細胞は自己複製能、多能性マーカー発現、三胚葉への分化能があった。酸化ストレス下での細胞生存能は Muse 細胞(50%)が non-Muse 細胞 (22%)と比較して有意に高かった (P&lt;0.005)。BDNF, VEGF, HGF の分泌は Muse 細胞 (273 pg/ml, 1479 pg/ml, 6591 pg/ml)が non-Muse 細胞 (133 pg/ml, 1165 pg/ml, 2383 pg/ml)と比較して有意に高かった (P&lt;0.005)。神経分化能は Muse 細胞では神経細胞マーカー陽性細胞 (Tuj-1: 27%、O4: 17%、GFAP: 23%)を認めたが、non-Muse 細胞では認めなかった。機能評価では神経分化誘導後 Muse 細胞 (0.18)は non-Muse 細胞 (0.041)よりも有意に大きな脱分極を認めた (P&lt;0.05)。</p> <p><b>【考察】</b></p> <p>Muse 細胞はマウス脂肪組織由来 MSCs から分離可能であり、多能性幹細胞の性質を</p>	

有し、non-Muse 細胞よりも優れた細胞生存能、神経栄養因子分泌能、神経分化能を持っていた。ヒト Muse 細胞は non-Muse 細胞よりも優れた DNA 損傷の修復システムを持つことが報告されており、マウス脳梗塞モデルへの移植実験において、ヒト Muse 細胞は神経細胞に分化し錐体路まで伸長したが、ヒト non-Muse 細胞は神経分化しなかったと報告されている。本研究ではマウス Muse 細胞は脂肪組織から分離抽出され、non-Muse 細胞よりも優れた神経再生能を持つことが示された。本研究結果から、Muse 細胞の神経再生研究への応用が期待される。