

急性期脊髄損傷に対する骨髄由来単核球移植療法の
作用機序及び肝細胞増殖因子の関与に関する研究

(Studies on therapeutic mechanisms of bone marrow-derived
mononuclear cell and involvement of hepatocyte growth factor in
acute spinal cord injury)

学位論文の内容の要旨

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科
獣医学専攻博士課程平成 25 年入学

新井清隆

(指導教授：原 康)

骨髄由来単核球 (bone marrow-derived mononuclear cell: BM-MNC) は脊髄損傷の急性期において使用可能な細胞ソースであり、移植することで運動機能改善効果をもたらす。BM-MNC による細胞保護や血管新生といった治療効果は成長因子のパラクラインによってもたらされると考えられているが、詳細な機序はほとんど明らかにされていない。本研究では急性期脊髄損傷に対する BM-MNC 移植療法の作用機序を明らかにすることを目的とし、さらにその知見に基づいた新たな治療法の開発を試みた。緑色蛍光蛋白 (green fluorescent protein: GFP) でトラッキングした BM-MNC をラット脊髄損傷モデルに移植し、作用機序に関連すると考えられる所見を免疫組織化学的に解析した。結果、移植した BM-MNC 由来マクロファージは損傷部位の血管壁に接着する特徴的挙動を呈することが明らかとなった。また BM-MNC は損傷部位で種々の成長因子を産生することが確認されたが、特に肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor: HGF) を高率に発現していた。BM-MNC による細胞保護効果の機序を解析したところ BM-MNC は神経細胞モデルであるラット褐色細胞腫細胞株 (PC12) に発現する c-Met をリン酸化し、活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) 産生量を有意に減少させると同時に細胞死を抑制することが明らかとなった。また ROS 産生抑制および細胞死抑制効果は c-Met 阻害剤存在下で低下した。BM-MNC 移植療法の代替法として HGF 脊髄実質単回投与法の治療効果を解析した。その結果、HGF 投与群では損傷 14 および 28 日後に拡散テンソル画像の Fractional anisotropy 値が対照群よりも有意に高値を示すことが明らかとなった。また、損傷 28 日後における免疫組織化学的解析の結果、HGF 投与群の神経細胞体、軸索およびアストロサイトマーカー陽性領域は対照群よりも有意に広いことが確認され、組織保護効果が明らかとなったが BM-MNC 移植療法と比較するとその効果は限定的であった。本研究の結果、BM-MNC 移植療法における細胞保護効果の少なくとも一部は HGF のパラクラインを介した ROS 産生抑制によってもたらされることが示唆された。また、in vivo における解析の結果、HGF 単回投与法の効果は BM-MNC 移植療法と比較すると劣ることが明らかとなったが、組織保護効果はある程度認められたことから新たな治療法の可能性が示唆された。また本研究では BM-MNC 由来マクロファージが損傷部位で血管壁に接着する特徴的挙動を呈することが明らかとなった。今後さらなる解析によって血管新生機構の解明に寄与することが期待される。