

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 井 上 裕 治

本研究は、本邦での失明原因の4位を占めている網膜色素変性症における新しい治療法を開発するため、網膜幹/前駆細胞をウサギおよびサルより同定し性状解析を行い、その細胞および骨髄間質細胞を用いて細胞移植療法を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ウサギ網膜周辺部組織から単離した細胞をスフェア法で培養すると、毛様体上皮からのみスフェアが形成された。また、メチルセルロースを培地に添加したゲル状の培地を使用し、細胞凝集によらずにスフェアを形成する系、すなわち網膜幹/前駆細胞をクロノジェニックに増殖させる系を確立した。

2. 得られたスフェアは増殖能を持ち継代可能であり、分化させると各種網膜細胞に特異的なマーカーを発現した。また、クロノジェニックに増殖したスフェア一つ一つの分化能を検討した。神経系およびグリア系へ両方に分化可能であったスフェアは2割強だけであり、加えて、一つの1次スフェアから2次スフェアが形成されたのは13.6%であるので、2割程度の細胞がより未分化な幹/前駆細胞であり、残りは分化の運命が既に決定されており、増殖能も限られている前駆細胞である可能性が高いと考えられた。

3. サルにおいても同様に、毛様体上皮からスフェアが形成されたが、色素細胞を含んだ毛様体色素上皮細胞由来と考えられるスフェアのみ2次スフェアを形成した。得られた1次スフェアを分化させると、神経細胞や視細胞のマーカーの発現が認められる神経様の細胞と、上皮細胞のマーカーの発現が認められる上皮様の細胞が認められた。サルにおいて

も、毛様体上皮に網膜幹/前駆細胞が存在し、感覚網膜細胞だけではなく網膜色素上皮細胞への分化能を持つことが示唆された。

4. 成体ウサギ毛様体上皮由来スフェアを網膜変性症モデルラットの一つである RCS ラット網膜下に細胞移植したが、網膜変性抑制効果は限定的であった。

5. マウス骨髄間質細胞のマウス新生仔網膜細胞への神経保護効果を、骨髄間質細胞の培養上清を用いて検討すると、骨髄間質細胞の培養上清に新生仔網膜細胞やその一部である視細胞あるいは視細胞前駆細胞に対して、増殖促進作用あるいは細胞死抑制作用があると示唆された。

6. 骨髄間質細胞を RCS ラット網膜下に移植し、網膜変性に対する変性抑制効果を検討した。組織学的および網膜電図による電気生理学的に検討すると、移植後 5 週および 8 週後において、sham 眼に比較して移植眼では網膜変性が抑制されていると示唆された。

以上、本論文はウサギ網膜幹/前駆細胞を毛様体上皮細胞より同定し、クロノジェニックに解析を行い、その性状を明らかとした。サルにおいても網膜幹/前駆細胞を同定し、その性状を明らかとした。また、骨髄間質細胞の網膜下細胞移植療法により、網膜変性モデル動物に対し、網膜変性抑制効果が認められた。本研究では、未だに治療法のない網膜変性症の新しい治療法開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。