

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 伊藤 大介

嗅粘膜から嗅球に存在する Olfactory Ensheathing Cells (OECs)は、軸索伸展能ならびに髄鞘形成能を有し、嗅神経再生に関与している。また OECs は Astrocytes と共存できることから脊髄再生に有用であると期待されており、ラット脊髄損傷モデルではその効果が報告されている。しかしラットと同様の効果が犬で得られるかは不明であり、臨床応用を行うには多くの問題がある。これらの問題を解決し、犬における脊髄再生療法が可能となれば、重度脊髄損傷犬に対する大きな福音となる。したがって本研究では犬において OECs を用いた脊髄再生療法を確立することを目的として以下の検討を行った。

第3章では東京大学動物医療センターに来院し、重度胸腰部椎間板ヘルニアと診断された犬について発症期間、手術までの期間、手術時肉眼所見、ならびに Magnetic Resonance Imaging (MRI) 所見と神経学的予後との関連性を検討した。その結果、深部痛覚の有無と、MRI, T2 強調像における脊髄高信号像が予後に強く関連していることが判明した。したがって、椎間板ヘルニア症例で深部痛覚が消失し、MRI, T2 強調像で脊髄に高信号所見が認められた症例は、OECs 移植の良い候補となることが明らかになった。

第4章では、自家移植を目的とした犬の嗅粘膜 OECs の可能性について検討した。犬において嗅球から OECs の採取は可能であるが、嗅球損傷に伴う発作の危険性が報告されている。これに対して、嗅粘膜から OECs を採取できればこの問題を回避することができる。そこで安楽死犬から嗅粘膜を採取し、OECs 培養の可能性について検討した。その結果、21日培養時点で犬の脊髄への移植に必要と考えられる  $5 \times 10^6$  個/犬程度の OECs が採取可能であったが、OECs の割合は約 25%に減少していた。この検討から、犬の嗅粘膜から OECs を採取できることは示されたが、細胞を精製する必要があることが明らかとなった。

第5章では、ラットや人の OECs 精製方法によって犬嗅粘膜 OECs が精製可能か検討した。その結果、Poly-L-Lysin uncoated slides の変法だけが犬嗅粘膜 OECs 精製に有用であったが、確実な再現性が得られなかった。そこでさらに OECs に類似する Schwann Cells (SCs) 精製方法である血清無添加培養液による精製法が、OECs に有用であるか検討した。その結果、安楽死犬から採取した嗅粘膜 OECs の全てにおいて、21日培養時点での OECs の割合は 80%以上で、また細胞数も  $5 \times 10^6$  個/犬を越えており、血清無添加培養液によって犬嗅粘膜 OECs も精製可能であることが明らかとなった。

第6章では Calponin タンパクの検索により SCs と OECs の区別が可能か検討した。SCs と OECs は非常に類似し、その区別が困難であるため、OECs の効果を組織学的に評価する上で問題となる。しかし最近、幼若ラットにおいて OECs は Calponin を発現しているのに対し、SCs は発現していないことから容易に区別できると報告された。そこで本章で

は、性成熟ラットにおいて Calponin 発現の有無により、OECs と SCs が区別できるか検討した。その結果、OECs ならびに SCs のいずれにも Calponin の発現は認められず、髄膜細胞ならびに線維芽細胞において Calponin の発現が認められた。以上のことから Calponin 発現による OECs と SCs との区別は不可能であることが明らかになった。

第 7 章では嗅球 OECs あるいは嗅粘膜 OECs 移植後、安楽死処置あるいは交通事故で亡くなった犬 3 症例の脊髄病理組織を検討した。その結果、全ての症例において OECs あるいは SCs による末梢神経型の髄鞘が数多く認められた。犬の場合、内因性 SCs による再髄鞘化はないと報告されているため、本研究で認められた末梢神経型の髄鞘は移植した OECs の可能性が高いことが示唆された。

以上本研究では、犬における重度脊髄損傷に対する画期的な治療法として期待される OECs 移植療法について、適応患者の選択基準を作成し、さらに嗅粘膜から OECs が採取・培養できることを証明した後、嗅粘膜 OECs の精製法を確立し、最後に実際の脊髄損傷犬に培養した OECs を移植したときに脊髄軸索の再髄鞘形成が得られることを示したものであり、学術上、臨床応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の博士論文として価値あるものと認めた。