

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 藤田直己

重度脊髄損傷は発生頻度の高い疾患であるが、損傷された中枢神経は基本的に再生せず、失われた機能を回復させることは難しいと考えられてきた。しかし近年、再生阻害のメカニズムが徐々に解明され、それを克服できる可能性が示されるようになった。その中で細胞移植療法は最も期待される治療法の一つであるが、とくに嗅神経（鼻粘膜）鞘細胞（OECs）移植は、動物実験レベルで軸索再生や再髄鞘化に伴う運動機能回復が示されたことに加え、倫理面や方法論などから現在のところ臨床応用に最も近い移植材料と考えられる。しかし、実際の症例で著効を示した報告はまだなく、他の治療法との組み合わせなどにより、さらに再生能を高める必要があると考えられる。一方、近年脊髄損傷後のリハビリテーションが脊髄の可塑性変化を促進し、運動機能の改善を導くことが明らかにされている。可塑性変化の要因として、損傷脊髄での神経栄養因子発現上昇が挙げられているが、これらの因子は OECs の生存能力や軸索再生の機能を高めるとの報告もあることから、OECs 移植にリハビリテーションを組み合わせることにより脊髄の機能回復効果が相加・相乗的に増強されることが期待できる。

以上の背景から本研究では、臨床的な脊髄損傷の病態に最も近いとされる脊髄挫傷モデルラットを用い、OECs 移植とトレッドミルトレーニングを組み合わせた場合の運動機能回復効果を検討し、さらにその機序を病理組織学的検討ならびに神経栄養因子発現解析と神経栄養因子の細胞レベルでの機能から評価した。

まず、中等度および重度脊髄挫傷モデルに対し、OECs 移植とトレッドミルトレーニングが運動機能に与える影響を評価した。OECs 移植とトレーニングの組み合わせ治療を行った群、どちらか単独の治療を行った群、どちらも行わなかった無治療（対照）群に分けて評価したところ、単独の治療ではどちらのモデルにおいても改善傾向はあったが、対照群と比べて有意差はなかった。一方、組み合わせ治療を行った場合、重度挫傷モデルにおいて、移植後 2 週目以降に有意な運動機能回復を示した。以上から、OECs 移植後のトレーニングによる機能回復効果の増強が示された。なお、中等度挫傷モデルは、自然回復が強く生じ、重度脊髄障害のモデルとして適切でないと考えられた。

次に、このような結果に至った機序を解析するために、上述の検討で使用した重度脊髄挫傷モデルの損傷部位における病理組織学的評価と神経栄養因子発現解析を行った。病理組織学的評価では、残存組織が OECs 移植により増加する傾向が認められたが、移植した OECs の生存はトレーニングを組み合わせた群でも確認できなかった。神経栄養因子発現解析では、組み合わせ治療を行った群で BDNF の有意な発現上昇が認められたが、OECs と神経栄養因子の発現上昇の直接的関連性は明らかにできなかった。以上の結果から、明確な解答は示せなかったが、組み合わせ治療による有意な運動機能回復の機序に、OECs による残存組織の増加と、BDNF による軸索の機能的可塑性変化の促進による相加的作用が考えられた。

BDNF の OECs に対する効果を検討するため、*in vitro* の解析も行った。すなわち今回用いた OECs と DRG ニューロンを共培養し、BDNF 添加による有突起細胞数と神経突起

長の変化について検討した。しかし、それらの値は BDNF 濃度により変化せず、今回移植に用いた OECs では BDNF による軸索伸展効果の増強はなかったと考えた。

以上より、本研究ではラット重度脊髄挫傷モデルにおいて、OECs 移植とトレッドミルトレーニングによる運動機能の有意な改善が示され、OECs による残存組織の増加と BDNF の発現上昇による残存軸索の機能的な可塑性変化が考えられた。しかし、*in vitro* で今回移植に用いた OECs は BDNF により軸索伸展能の増強を示さなかったことも含め、それらの直接的関連性は不明であり、今後この点についてより詳細な検討を加えるとともに、OECs の損傷部での生存能力や機能回復効果、さらにリハビリテーションが脊髄や OECs に与える影響について、検討を続ける必要があると考えられた。

以上本研究は、重度脊髄損傷例に対して細胞移植療法とリハビリテーションの組み合わせが相加的な機能回復を導く可能性を *in vivo* および *in vitro* の両面から示したものであり、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）論文として価値あるものと認めた。