

# 論文内容要旨

Endoscopic repair of urinary bladder with magnetically labeled mesenchymal stem cells : preliminary report

(磁性体化間葉系幹細胞による膀胱再生)

Regenerative Therapy, 2019, in press.

主指導教員：松原 昭郎教授

(医歯薬保健学研究科 腎泌尿器科学)

副指導教員：安達 伸生教授

(医歯薬保健学研究科 整形外科学)

副指導教員：亭島 淳准教授

(医歯薬保健学研究科 腎泌尿器科学)

定秀 孝介

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

膀胱癌の発生頻度は、先進国では男性の中で4番目に多い癌と報告されている。膀胱癌は主に尿路上皮由来の癌であり、症例の75%が筋層非浸潤癌である。筋層非浸潤癌の治療として、経尿道的膀胱腫瘍切除術(TURBT)が行われるが、その膀胱内再発率は50%以上と高い。これに対する頻回のTURBTは、膀胱壁の癒痕化や菲薄化を引き起こすので、損傷した膀胱壁の治癒を促進するためのより効率的な再生技術が、求められている。

再生医療に用いられる細胞の候補として、間葉系幹細胞(MSCs)や末梢血由来のCD34およびCD133陽性細胞などの造血幹細胞、iPS細胞などが挙げられる。これらのうち自家骨髄由来間葉系幹細胞は、宿主自身由来のため移植後の免疫反応が生じない、培養によって容易に細胞数を増加させることができる等の利点を有しており、組織再生や細胞治療への臨床応用が報告されている。さらに、ナノサイズの鉄粉を貪食させることによって磁性化されたMSCsは、外部に設置した磁石の磁場によって目的の部位に誘導することが可能である。整形外科領域では、磁性化したMSCsを関節鏡視下に軟骨損傷部に誘導し、効率的な軟骨再生を可能とする磁気ターゲティングシステムが開発され、すでに臨床応用されている。膀胱は膝関節腔と同様に袋状の臓器であり、また、膀胱では経尿道的操作により切開などの侵襲を加えることなく損傷部位にアプローチすることが可能である。よって、TURBT後の膀胱損傷部位の修復に、磁器ターゲティングシステムを用いたMSCsによる組織再生技術は適していると考え、動物モデルを用いて本法の有用性を明らかにすることを目的とし、本研究を考案した。

全身麻酔下に日本兎の腸骨稜から9ccの骨髄液を採取し、採取した骨髄液を培養して、MSCsを抽出した。MSCsとMRI造影剤として使用されている鉄成分を含んだフェルカルボトランを共培養することで、磁性化MSCsを作成した。膀胱鏡を用いて、膀胱前壁に20mm×20mmの経尿道的電気凝固(TUF)を施行した。TUFを施行したのみのcontrol群(4例)、磁性体化MSCsを膀胱内注入したのみの膀胱注入単独(MSC M-)群(4例)、MSCsを膀胱内に注入した後に腹壁から1テスラの磁石を用いて膀胱前壁に磁気ターゲティングを行ったターゲティング(MSC M+)群(4例)の3群を設定した。各群において、TUF施行2週後にMRI撮影による画像評価を行った後に膀胱を摘出し、HE染色および $\alpha$ SMA抗体を用いた免疫染色によって、組織学的に評価した。また、摘出した膀胱の損傷部位を採取し、組織再生に関与する分子群の発現を解析した。MRIで評価した膀胱壁の厚さは、MSC M+群では $222.9 \pm 61.4 \text{mm}^2$ でcontrol群( $43.9 \pm 44.4 \text{mm}^2$ ,  $p=0.0202$ )、MSC M-群( $112.1 \pm 50.2 \text{mm}^2$ ,  $p=0.0433$ )と比較して有意に膀胱損傷部位の厚さが増加した。膀胱損傷部位の組織学的評価を行ったところ、粘膜下組織に線維芽細胞の増殖を認め、損傷部位の肥厚がみられた。免疫染色では、肥厚部位に $\alpha$ SMA染色陽性を呈する筋線維芽細胞の増殖がみられた。Real-time PCRで筋線維芽細胞の増殖にかかわるFGF1、FGF2の発現や、炎症性サイトカインであるIL2を検討したが、3群間で有意差を認めなかった。

これまでに報告されているコラーゲンを用いた膀胱再生やシート状にしたMSCsを用い

た膀胱再生手法では、膀胱を切開する必要があるのに対し、MSCs の注入は低侵襲な経尿道的アプローチのみによって施行可能である。膀胱内に MSCs を注入するのみでは、MSCs の大部分が膀胱内を浮遊し損傷部位への付着することなく排出される。これに対し、磁気ターゲティングを用いた本研究では、磁性化 MSCs を効率よく損傷部位に付着させ、再生を促進しうる可能性が示唆された。

以上の結果から、本論文は、磁器ターゲティング法による膀胱損傷部位への磁性体化 MSCs の誘導が、画期的な膀胱の再生技術確立の一助となる可能性を示しており、泌尿器科学の発展に貢献することが大きい。