

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	定秀 孝介
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 ①・2 項該当		
論文題目 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)			
論文審査担当者			
主査	教授	東 幸仁	印
審査委員	教授	正木 崇生	
審査委員	准教授	久保 忠彦	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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療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。</p> <p>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食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。</p> <p>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 α 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。</p> <p>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 α 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。</p> <p>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</p>			

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。

よって審査委員会委員全員は本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値があるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	定秀 孝介
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 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)			
最終試験担当者			
主査	教授	東 幸仁	印
審査委員	教授	正木 崇生	
審査委員	准教授	久保 忠彦	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成31年2月7日の第78回広島大学研究科発表会（医学）及び平成31年2月5日日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 膀胱再生における先行研究 2 膀胱再生及びその解析における研究手法の詳細 3 MSCによる膀胱再生の分子メカニズム 4 鉄分子および磁場が再生に及ぼす影響 5 臨床応用に向けての課題 <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			