



Title	Isolation of tissue-resident endothelial stem cells and their use in regenerative medicine
Author(s)	射場, 智大
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/82101
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	射場 智大
論文題名 Title	Isolation of tissue-resident endothelial stem cells and their use in regenerative medicine (組織内在性血管内皮幹細胞の単離並びに再生医療への応用法)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 血管は組織への酸素・栄養素の供給、老廃物の排出のみならず、組織特異的な形態形成に重要な役割を担っており、組織再生を考慮する上で血管の再生は不可欠な要素と考えられる。しかし、血管を再生する手法についての報告は多くはなく、血管再生法の確立が望まれている。こうした背景の元、幹細胞様の性質を示す組織内在型血管内皮細胞として同定された血管内皮SP(E-SP)細胞に着目し、これらを用いた血管再生について研究を行った。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 医療応用を考慮し、比較的低位侵襲に採取できる、又は術中の余剰部位として入手可能な組織として、脂肪組織と皮膚組織、胎盤組織を候補組織として、それぞれの組織からE-SP細胞が単離可能か解析した。E-SP細胞は、薬剤排出能等の亢進により、DNA結合色素のHoechst色素で染色されない (Side Population) 内皮細胞のことを指し、本研究においてもHoechst色素による染色をセルソーティング前に行い、検討を行なった。その結果、候補となる三種の組織全てからE-SP細胞の同定並びに細胞回収を行うことができた。 回収されたE-SP細胞の細胞増殖能についてコロニーフォーメーションアッセイにより検討したところ、コロニー形成能を示したのは脂肪・皮膚組織由来のE-SP細胞のみであり、胎盤組織由来E-SP細胞ではコロニー形成能を認められなかった。 更に、<i>in vivo</i>における血管構築能について検討を行なった。脂肪組織由来のE-SP細胞をマトリゲルと混和し、これを皮下へと移植した所、マトリゲル内部で移植したE-SP細胞による血管ネットワークの構築が確認された。また、下肢虚血モデルマウスの下肢筋肉中へ移植したところ、虚血部位における血管の構築と構築された血管内での血流が認められた。 次に、E-SP細胞の由来を確認する事を目的として、GFPマウス由来の骨髄移植マウスを用い検討を行なった。フローサイトメトリーにより、骨髄移植を行なったマウスにおいてE-SP細胞の解析を行なった所、全てがGFP陰性を示し、E-SP細胞は骨髄に由来しない、即ち内皮前駆細胞(EPC)として知られる細胞とは異なる細胞集団である事が示された。 最後に、幹細胞様の内皮細胞マーカーとして知られるCD157について、E-SP細胞における発現についてフローサイトメトリーを用い検討を行なった。その結果、脂肪・皮膚由来のE-SP細胞には、他の内皮細胞と比較して高い割合でCD157陽性血管内皮細胞が含まれている事が示された。	
〔総 括(Conclusion)〕 医療現場にて利用できる可能性が高い組織よりE-SP細胞が採取できる事が明らかとなった。今後、これらの細胞を用いることにより、虚血性疾患の治療や組織再生へ応用できる可能性が示された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 射場 智大			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	高倉 伸幸
	副 査	大阪大学教授	原 英 二
	副 査	大阪大学教授	石谷 太
論文審査の結果の要旨 本研究は、幹細胞性を示す組織常在型の血管内皮細胞として知られる血管内皮Side Population (E-SP) 細胞について、これらの細胞を用いる事で虚血性疾患などの治療へ応用する事が可能であるかについて検討したものである。検討の結果、医療応用可能と考えられる組織より採取したE-SP細胞について、移植により新規の血管ネットワークを構築する能力がある事が示された。 本研究では、脂肪組織や皮膚組織、胎盤組織と言った余剰部位として医療資源として採取可能な組織からE-SP細胞が採取できるか検討を行なった。その結果、3組織いずれよりもE-SP細胞を回収する事が可能であった。更に、これらの細胞について血管の構築能を持つか検討を行なったところ、下肢の虚血モデルへ脂肪組織由来E-SP細胞を移植したところ血管ネットワークの構築と構築された血管内での血流が認められた。 本論文では、ヒトでの医療応用が考えられうる組織に由来するE-SP細胞の単離を可能とし、またこれらの細胞が実際に虚血の治療へと使い得るといった新たな知見が得られた事を鑑み、申請者に対し博士(医学)の学位授与に値するものとする。			