

別紙 1 - 1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 乙 第 号
------	---------

氏 名 佐藤 恵一

論 文 題 目

Isolation and characterisation of peripheral blood-derived feline mesenchymal stem cells

(ネコ末梢血由来間葉系幹細胞の樹立)

論文審査担当者


名古屋大学教授

主 査 委員

室原豊明 

名古屋大学教授

委員

古森公浩 

名古屋大学教授

委員

清井 仁 

名古屋大学教授

指導教授

碓氷尊彦 

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

今回、ネコの末梢血から間葉系幹細胞 (MSC) を分離できるか検討した。ウシ胎児血清 (FBS) とネコ自己血漿 (AP) を添加した基本培地を用いて末梢血由来単核球を培養した結果、紡錘形細胞を得ることに成功した。これら紡錘形細胞は CD44 と CD90 が高い陽性率を示し、MHC class II と CD4 が陰性という MSC に特徴的な細胞表面マーカーを有し、骨・軟骨・脂肪細胞への分化能を示した。以上より、この細胞をネコ末梢血由来 MSC と同定した。ネコ末梢血由来 MSC は他種動物の末梢血由来 MSC と同様の細胞形態と増殖能を呈した。しかしながら分離できた細胞間でその性質に差を認め、個体差も含め末梢血に動員された細胞の状態が不均一である可能性が示唆された。またネコにおいても特徴的な方法が必要になったように動物種毎で末梢血由来 MSC の分離培養方法は異なり、末梢血中の MSC の体内動態の差が存在することが示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. MSC は末梢血中に動員されるとプラスチック接着性が低下する可能性があることが報告されている。FBS 濃度を上昇させても分離できなかったことと継代以後は FBS のみを添加した培地で培養可能であったことから初期培養において FBS と AP 添加によるサイトカイン等の適当なバランスが MSC の接着能を高めた可能性が考えられた。またウシとネコのサイトカインの多くでそれぞれクロスしないことが示されており、ネコ固有の物質が分離の根本に寄与したと考察した。
2. 今回、分離の可否に年齢、性別、品種で特定の傾向を見出すことはできなかった。しかしながら本検討で末梢血を採取したネコは家庭で飼育されており、飼い主の稟告及び血液検査上著変を認めないものを健康個体として用いているため、潜在的な健康状態の変化があった可能性がある。一因の例として過去にネコ foamy virus の感染は脂肪組織由来 MSC の分離と増殖を妨げることが示されており、本検討でも確認出来ていない感染が分離可否に影響を与えた可能性がある。今後 SPF ネコを用いることや、大規模な検討で様々な要因での分離傾向の評価が必要である。
3. 本検討では同種他家血漿を用いた検討は行っていないが、過去の多種の動物において allogeneic PRP での MSC 分離増殖が報告されており、ネコ末梢血由来 MSC においても同様に他家血漿が有用である可能性は十分に考えられる。さらに分離の可否が、末梢血中の MSC の循環の有無なのか自己血漿の有効成分の差によるものなのかは重要な要因であるため、分離できた個体の他家血漿添加培地を用いた分離実験での検証が望まれる。





本研究はネコ末梢血由来 MSC を樹立し、MSC 研究に重要な知見を提供した。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するのに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 乙 第	号	氏 名	佐藤 恵一
試験担当者	主査	室原豊明	副査 ₁	古森公洋
	副査 ₂	清井 仁	指導教授	碓氷章孝
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ネコ末梢血由来MSCの分離に自己血漿が有用であった理由は何か。 2. 分離できなかった個体が存在した理由は何か。 3. 自己血漿でなく同種他家血漿は用いることはできるのか。 <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、心臓外科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				

学力審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 乙 第 号	氏 名	佐藤 恵一	
試験担当者	主査	室原豊明 	副査 ₁	古森公浩 
	副査 ₂	清井 仁 	指導教授	碓氷章孝 
(学力審査の結果の要旨)				
<p>名古屋大学学位規程第10条第3項に基づく学力審査を実施した結果、大学院医学系研究科博士課程を修了したものと同等以上の学力を有するものと学位審査委員合議の上判定した。</p>				