

## 慶應義塾大学学術情報リポジトリ

## Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	脱神経により廃用性萎縮をきたしたラット骨格筋に対する培養筋芽細胞の移植
Sub Title	
Author	小山, 太郎(Koyama, Taro)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.14-
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="http://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0014">http://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0014</a>

# 脱神経により廃用性萎縮をきたしたラット骨格筋に対する 培養筋芽細胞の移植

小山 太郎

## 内容の要旨

脱神経された骨格筋は筋線維が縮小し、廃用性萎縮が進行し筋力は急速に低下する。骨格筋の筋線維の基底膜下には筋原性幹細胞である筋衛星細胞が存在し、筋損傷時にはこの筋衛星細胞が増殖し、損傷部位の筋再生が起こる。ラットの骨格筋を脱神経すると、3週間は筋衛星細胞は増殖し続けるが、筋肉への神経再支配が起こらない限り増加した筋衛星細胞による筋再生は起こらず、やがて筋衛星細胞は枯渇していく。よって脱神経後、神経再支配までの期間が長くなるほど、筋衛星細胞の減少は進行し、神経筋接合部位の進行変性もあわさって、神経再支配後の筋力の回復は低下する。

われわれは筋芽細胞を移植することで脱神経後の萎縮筋内における筋衛星細胞の減少を補充することができれば、神経再支配後の筋再生、筋力改善を向上させられるとの仮説を立てた。

筋芽細胞を用いた細胞移植治療としてはデュシェンヌ型筋ジストロフィーや心筋梗塞後の心不全に対する治療報告がある。筋ジストロフィーmdxマウスの筋内に、ジストロフィン産生能をもった正常マウスの筋芽細胞を注射したところ、移植筋芽細胞がジストロフィンの欠損した筋細胞と融合し、筋細胞膜にジストロフィンを発現することに成功している。また虚血性心疾患の患者に対して、自家培養筋芽細胞を移植して心機能が改善したという報告もある。

しかしながら、廃用性萎縮骨格筋に対する筋芽細胞移植の報告は少なく、移植した筋芽細胞が神経再支配の起きていない脱神経下の筋肉に生着しうのかどうかは不明である。

われわれは、green fluorescent protein transgenicラットの下腿筋から筋芽細胞を採取、培養し、この培養筋芽細胞を脱神経から40日経過したラット廃用性萎縮腓腹筋に移植し、移植した筋芽細胞が神経再支配なしに生着しうのか、さらに筋線維に分化しうのかをvimentin、desmin、myosin、 $\alpha$ SMAに対する蛍光免疫染色をおこない、検討した。

脱神経後40日目に移植された筋芽細胞は、神経再支配がなくとも移植後1週で生着しており移植後2週には筋線維への融合が確認された。移植後4週においても筋線維に融合した移植細胞が確認できた。筋重量の計測では、脱神経後、筋重量は減少していったが、移植後2週までは筋重量の減少はわずかであった。これらの結果から脱神経後の神経縫合前の時期に筋芽細胞を移植することで廃用性萎縮の進行を抑制し、神経縫合後の筋力回復結果を改善できる可能性が示唆された。

## 論文審査の要旨

廃用性萎縮に陥りつつある骨格筋への筋芽細胞移植の報告は少なく、移植した筋芽細胞が神経再支配の起きていない脱神経下の筋肉に生着しうのかどうかは不明である。green fluorescent protein transgenicラットの下腿筋から筋芽細胞を採取、培養し、この培養筋芽細胞を脱神経から40日経過したラット廃用性萎縮腓腹筋に移植し、移植した筋芽細胞が神経再支配なしに生着しうのか、さらに筋線維に分化しうのかをvimentin、desmin、myosin、 $\alpha$ SMAに対する蛍光免疫染色をおこない検討した。脱神経後40日目に移植された筋芽細胞は、神経再支配がなくとも移植後1週で生着しており移植後2週には筋線維への融合が確認された。移植後4週においても筋線維に融合した移植細胞が確認できた。

審査ではまず移植細胞の量の妥当性について質問がなされた。これに対して、マウスで $1 \times 10^6$ 個、ウサギで $1 \times 10^7$ 個の筋芽細胞を移植した報告があり、本実験に用いたラットの体重から移植細胞数を $1 \times 10^6$ 個に決定したと説明がなされた。また、各種サイトカインが廃用性萎縮に及ぼす影響については報告があるかとの質問がなされた。これに対して、IGFの投与で脱神経による廃用性萎縮の進行が抑制されたという報告があるが、サイトカイン単独よりも細胞成分を含んだ移植の方がより効果があると考え、この実験を行っているとの回答があった。次に細胞移植後に筋重量の計測を行っているが、筋重量には廃用性萎縮に伴うfibrosisの重量が含まれている可能性があり、筋萎縮の程度を評価する為には筋重量計測単独ではなく筋組織の断面積の計測の併用が望ましいとの指摘がなされた。また筋芽細胞移植が廃用性萎縮に及ぼす効果を検討する為には、細胞移植群のnを増やすとともに、細胞移植を行わなかった廃用性萎縮筋モデル群を作成し両群の比較を行う必要があると指摘された。最後に、今後、筋再生を目指すのであれば細胞移植単独ではなく、神経縫合や電気刺激、各種サイトカインの併用などが必要であろうと指摘された。

以上のように本研究にはさらに検討すべき課題を残しているものの、脱神経下においても萎縮筋内で移植細胞が生着しうることが示されたことから、今後、細胞移植による廃用性萎縮進行の予防や、細胞移植と神経縫合の併用による筋力の改善といった臨床応用の可能性が期待されるという点で有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 形成外科学 中島 龍夫

耳鼻咽喉科学 小川 郁 整形外科学 戸山 芳昭

外科学 河瀬 斌

学力確認担当者：

審査委員長：小川 郁

試問日：平成18年12月29日