

論文概要 (Thesis Abstract)

○ 論文題目：

急性期に投与した低アルデヒドデヒドロゲナーゼ活性血管内皮前駆細胞はラットの亜急性期脳梗塞の機能転帰を改善させる

○ 指導教員

人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻 松村明 教授

(所属)

筑波大学大学院人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻

(氏名)

佐藤 允之

目的：本研究では、治療効果・効率の高い血管内皮前駆細胞の特定の細胞群（Alde-Low EPC）をラット一過性脳虚血モデルに経動脈的投与することによる、亜急性期の治療効果を明らかにし、その機序を解析することで、血管内皮前駆細胞を用いた脳梗塞の再生医療の臨床応用・発展に寄与する。

対象と方法：ヒト臍帯血から分離した EPC の細胞群（Alde-Low EPC と Alde-High EPC）をラット一過性脳虚血モデルに投与して、神経学的所見、脳血流、脳梗塞体積、死亡率を比較検討した。また摘出した脳組織から、GFP でラベルされ可視化された投与細胞を観察し、免疫組織学的評価により新生血管の発生頻度、分布を検討した。

結果：Rogers scale による神経症状スコアリングでは、Alde-Low EPC 群は投与 1 日目の死亡を他群と比較して有意に減少させた。また、Alde-Low EPC 群は、投与 7 日目の死亡を、PBS 群と比較して有意に減少させた（ $P < 0.05$ ）。7 日目まで生存したラットでは、Alde-Low EPC 群では他の群に比較して、有意差はないが機能回復を示す傾向にあった。局所脳血流は、脳梗塞を作製した全例（ $n=56$ ）で測定できた。正常側と比較して梗塞側で脳血流低下を認めたが、各群間や細胞投与前後で有意差はなかった。Alde-Low EPC 群は、1 日目に脳梗塞体積を他群と比較して有意に抑制したが、7 日目以降は Alde-Low EPC 群と PBS 群の差異は認めなかった。単位面積当たりの血管数を計測した結果では、抗 Factor VIII 抗体陽性となる新生血管の発現は、Alde-Low EPC 群のなかでは、脳梗塞周辺領域で他の部位に比較して、新生血

管が有意に多く観察された。また、各群間で脳梗塞側の新生血管の評価を検討すると、Alde-Low EPC 群でほかの細胞群より血管新生が有意に多く観察された。投与7日目と14日目においては、各群での GFP 陽性細胞は極めて少数しか観察されず、脳梗塞と対象側、投与細胞間で差異はなかった。Alde-Low EPC 群における蛍光顕微鏡による組織学的検討では、7日目の脳梗塞周囲組織では成熟した血管の周囲間質に GFP 陽性の Alde Low 細胞の迷入を認め、14日目の組織では新生血管の内膜に細胞が取り込まれている像も確認できた。

考察： Alde-Low EPC が急性期脳梗塞に対して、虚血性皮膚壊死と同様に治療効果を発揮することを確認した。特に死亡を引き起こすような大梗塞への進展と出血性変化の阻止に寄与している可能性があった。先行研究と今回の研究は、限られた時期（急性期）に細胞を投与し、限られた時期（発症24時間後、7日後、14日後）の治療効果を判定しているため、今後は投与時期（亜急性期、慢性期）や、投与経路（静脈投与）、至適投与量も検討していく予定である。また、治療効果の判定についても、脳梗塞体積だけでなく、生存群での機能評価や局所脳血流に対する効果の検討も必要である。また、Alde-Low EPC は亜急性期にはほとんど確認されなかったことから、生着することによる新生血管の分化による血流増加作用より、投与され脳梗塞周辺に集積したときに液性因子などによる予防効果が発揮されたと推測する。今後は、集束した Alde-Low EPC の機能解析や治療機序の解析、治療効果・治療効率を上げる研究

や、臨床応用に向けた研究を進めていく予定である。

結論： 新規に開発した虚血に対する治療効果の高い血管内皮細胞(Alde-Low EPC)は、急性期脳梗塞に投与することにより、広範脳梗塞や出血性梗塞による死亡率を低下させる。また、7日目、14日目の生存したラットでの脳梗塞体積は、各群間で差異は認めなかった。また、生存したラットの運動機能は Alde-Low EPC 群で改善する傾向があった。Alde-Low EPCは脳梗塞急性期に虚血巣周辺に集積し、一部は間質に迷入し、新生血管に分化した可能性が示唆された。投与した Alde-Low EPC は脳梗塞周囲の血管新生を誘発し、虚血組織の救済に寄与している可能性がある。