

論文概要

○ 論文題目

Adipocyte-derived stem cells have therapeutic effect in a rat stroke model

(脂肪細胞由来幹細胞はラット脳虚血モデルにおいて治療効果を有する)

○ 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) 池田 剛

目的:

脳梗塞は死亡や寝たきりにつながる重篤な疾患であり、社会的損失も大きい。急性期脳梗塞に対する治療法としては、近年血栓溶解療法や血栓回収療法などが導入されたが、その効果は限定的で therapeutic time window も限られている。急性期に血流再開が間に合わずに脳梗塞が完成されてしまうと、以降は再発予防とリハビリテーション以外の有効な治療が乏しいのが現状である。そのため、新規脳梗塞治療として期待されているのが細胞治療の分野である。

脳梗塞に対する細胞治療の報告は、様々な細胞源を用いた基礎研究がなされており、骨髄由来幹細胞などの組織由来間葉系幹細胞においては臨床研究も進んでいる。しかし、細胞治療においては細胞精製に高度な技術を要するという問題や組織採取の際の侵襲性の問題、倫理面の問題、生体内での腫瘍化の問題など、複数の問題点が残されている。つまり、細胞治療を臨床応用・一般化するためには、簡便に精製できて安全性の高い細胞源が必要となる。そのような細胞源として、成熟脂肪細胞から精製される幹細胞が注目されており、各分野で治療研究が進んでいる。しかし、この脂肪細胞由来幹細胞は脳梗塞治療として有効であるかは未だ証明されていない。そこで本研究は、脂肪細胞由来幹細胞の脳梗塞に対する治療効果についてラット脳虚血モデルを用いて明らかにし、その機序を解析することにより脳梗塞の再生治療における新たな細胞源を確立

し、臨床応用・発展に寄与することを目的とした。

対象と方法:

組織内で投与した細胞を可視化するために、GFP 陽性の脂肪細胞由来幹細胞を精製した。GFPトランスジェニックラットの皮下脂肪組織を採取し、コラゲナーゼ処理を行い遠心し、上層に分離される成熟脂肪細胞を回収した。成熟脂肪細胞を天井培養という特殊な培養法で培養し、脂肪細胞由来幹細胞を精製した。

動物モデルには体重 250-300g の雄性 SD ラットを使用した。塞栓系を用いて中大脳動脈閉塞を行った後に塞栓系を抜去することで虚血時間が 60 分のラット脳虚血モデルを作成した。脳虚血後 24 時間で尾静脈より 1×10^6 cells の細胞を投与し、虚血後 14 日間における生存率を評価した。生存したラットにおいて脳虚血後 14 日目に脳を摘出し、脳梗塞面積について比較した。神経症状は脳虚血後 1 日目・7 日目・14 日目に Rogers scale とロータロッド試験にて評価した。他に、投与細胞の分布の検討や免疫組織学的検討を行った。

結果:

脂肪細胞由来幹細胞を投与した群では、細胞を投与していないコントロール群と比較し、生存率が有意に高かった。また、細胞投与群では有意差をもって脳梗塞面積

の縮小を認めた。神経機能評価については、Rogers scale とロータロッド試験の双方において、細胞投与群で有意な神経症状の改善を認めた。脳組織の評価では、投与した脂肪細胞由来幹細胞が患側でのみ確認された。免疫染色では、虚血辺縁領域で BDNF の発現が上昇しており、GFAP の発現が低下していた。

考察:

他の間葉系幹細胞で知られるのと同様に、脂肪細胞由来幹細胞は脳梗塞巣へ遊走するものと考えられた。本研究では細胞投与群で虚血辺縁領域における BDNF の発現が上昇していたため、脂肪細胞由来幹細胞が神経保護因子の発現を促進して神経保護作用を発揮することで脳梗塞治療効果を有しているものと考えられた。また、GFAP の発現低下は活性化アストロサイトの抑制を示すと考えられ、脳梗塞急性期に神経障害性に作用する活性化アストロサイトの抑制作用が抗炎症作用として機能し、脳梗塞治療効果を発揮したものと考えられた。

結論:

脂肪細胞由来幹細胞は脳梗塞治療効果を有する。本細胞は他の細胞源に比べて簡便性・安全性などの複数の利点を有しており、脳梗塞再生治療の新たな細胞源として期待される。