

氏名	佐藤 允之		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 8683 号		
学位授与年月	平成 30年 3月 23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	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		
主査	筑波大学教授	医学博士	坪井 康次
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	瀬尾 由広
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	坂本 裕昭
副査	筑波大学講師	博士（医学）	石井 亜紀子

論文の内容の要旨

佐藤允之氏の博士学位論文は、急性期脳梗塞に対して、血管内皮細胞から分離した Alde-Low EPC を経動脈的投与することにより、梗塞巣を縮小させ、死亡率を低下させることができるかどうかを検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

（目的）

著者は、ラット一過性脳虚血モデルを用いて、脳梗塞の急性期から亜急性期に、血管内皮前駆細胞(EPC)由来の Alde-Low EPC を経動脈的に投与して、その治療効果と効果発現機序を明らかにしようとした。

（対象と方法）

著者はまず、ヒト臍帯血から EPC の細胞分画である Alde-Low EPC と Alde-High EPC を分離している。次に、ラット一過性脳虚血モデルを作製して、得られた Alde-Low EPC および Alde-High EPC を急性期から亜急性期に投与し、PBS 投与群を対照として、神経学的所見、脳血流、脳梗塞体積、死亡率を比較検討している。また治療後に摘出した脳組織において、GFP でラベルされた Alde-Low EPC 細胞を蛍光顕微鏡で観察してその数を各群間で比較するとともに、誘導された新生血管の分布を免疫組織学的に検討している。

（結果）

著者はまず、Alde-Low EPC 投与群では、PBS 群および Alde-High EPC 群と比較して投与1日目の死亡が有意に減少することを明らかにし、7日目まで生存したラットでは、Alde-Low EPC 投与群では他の群と比較して機能回復を示す傾向にあることも示した。正常側に対する梗塞側の脳血流低下の程度は各群間や細胞投与前後では差がなかったが、Alde-Low EPC 投与群では、投与1日目で脳梗塞体積が他群と比較して有意に減少し、7日目以降ではその差は認められなくなることを明らかにしている。さらに著者は、Alde-Low EPC 投与群では PBS 投与群と比較して14日目の死亡率も有意に低下することを明らかにしている。一方新生血管の観察とその数の計測では、Alde-Low EPC 投与群では対照群に比べ、血管新生

は有意に増加しており、それらは主に梗塞周辺領域に認められることを明らかにしている。また、投与7日目と14日目においては、投与した細胞の分布は、脳梗塞と対象側、投与細胞間で有意な差は認められなかったが、7日目では成熟した血管の周囲間質に Alde-Low EPC 細胞が迷入した所見が認められ、14日目では新生血管の内膜に投与した細胞が取り込まれている像も観察できることを報告している。

(考察)

著者は本研究で、Alde-Low EPC 細胞の経動脈的投与は、急性期脳梗塞に対して有効であり、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を阻止できることを明らかにしている。しかし、本研究のプロトコールでは、急性期に Alde-Low EPC を投与して、発症 24 時間後、7 日後、14 日後に効果を判定しているため、今後は、投与のタイミングや観察期間を変化させて亜急性期から慢性期での評価を行うとともに、Alde-Low EPC の経静脈投与の効果や、その場合の至適投与量などを明らかにすることが必要であると考察している。さらに、治療効果の評価においても、脳梗塞体積の測定だけでなく、局所脳血流の測定や、神経機能を数値化して評価することの重要性にも言及している。一方今回、亜急性期には、脳組織中に Alde-Low EPC はほとんど確認されなかったことから、著者は、投与した Alde-Low EPC が直接生着することよりも、何らかの液性因子が効果発現機序に関与している可能性があるかと推察し、今後は、Alde-Low EPC が集束する機序とともに、このようは液性因子などの探索が重要であると述べている。

(結論)

著者は、急性期脳梗塞に対して血管内皮細胞から分離した Alde-Low EPC を投与することで、梗塞巣を縮小させ、広範脳梗塞や出血性梗塞による死亡率を低下できることを明らかにしている。また、投与した Alde-Low EPC は脳梗塞周囲に血管新生を誘導して虚血組織の救済に寄与している可能性を示している。

審査の結果の要旨

(批評)

本邦では脳梗塞が増加傾向にあり、有効な治療法の開発が望まれる。特に出血を生じ死亡につながるような大きな脳梗塞に対する有効な治療法は極めて限られているのが現状である。今回著者は、ラットの一過性脳虚血モデルにおいて、血管内皮前駆細胞から分離した細胞群である Alde-Low EPC を脳梗塞急性期に投与することで梗塞巣を有意に縮小させるとともに、生存率を有意に改善できることを示した。この Alde-Low EPC の効果発現の機序に対する解析がさらに必要であるが、今後脳梗塞に対する新たな細胞療法の開発に大きく貢献できる研究内容である。

平成 30 年 2 月 5 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。