

学 位 論 文 要 旨

研究題目

Intravenous administration of human adipose-derived stem cells ameliorates motor and cognitive function for intracerebral hemorrhage mouse model

(マウス脳出血モデルへのヒト脂肪幹細胞静脈投与は運動並び認知機能を改善する)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻 高次神経制御 系

脳神経外科学(指導教授 吉村紳一)

氏 名 藏本 要二

【研究目的】脳出血は脳卒中の約 10%を占め、後遺症や死亡の原因となる。神経学的後遺症に対し機能改善が期待できる治療はリハビリテーションのみで、その効果は限定的である。本研究の目的は、当講座で樹立した無血清培養のヒト脂肪幹細胞(human adipose-derived stem cell:hADSC)による、マウス脳出血モデルに対する神経学的改善効果の有無ならびその機序を検討することである。

【研究方法】当科の腹部手術で同意の上採取した脂肪組織から hADSC を無血清下に分離培養した。7-9 週齢雄の C57BL/6J マウスを全身麻酔下に Bregma より左側 2mm, 深度 3.5mm の脳内にコラゲナーゼ 0.4U を注入し脳出血を誘導し、24 時間後 (Day1) に hADSC を静脈内投与した hADSC 群と溶媒を静脈投与した ICH 群に分けた。また、頭部皮膚切開と穿頭のみ sham 群を作成した。

急性期の神経学的検査は modified Neurological Severity Score (mNSS) で評価し、4 週間以降の亜急性期は多角的行動試験を行った。免疫学的機序の考察として hADSC 群と ICH 群とで Day8 の脳切片の免疫染色と、Day8 の脳と脾臓サンプルの Flow cytometry (FCM) で解析した。

【研究結果】我々の分離培養した hADSC は間葉系幹細胞陽性マーカーで 97%以上、陰性マーカーは 0.1%以下であった。mNSS では hADSC 群と ICH 群では有意差を認めないが、両群とも sham 群と有意差を認め、同程度の障害を有した脳出血の誘導を確認した。亜急性期の多角的行動試験では、hADSC の治療効果としてオープンフィールド試験で馴化を、ワイヤーハング試験では保持時間の延長、水迷路試験では逃避時間の延長、受動回避試験での退避時間の延長、オープンスペース水泳試験の水泳距離の延長と不動時間の低下を認めた。脳標本から免疫染色上 hADSC 群で血腫周囲の CD11b+ 細胞の減少を、FCM では CD11b+CD45+ の絶対数の減少と CD86+Ly6C+ 細胞の割合の上昇を認めた。この反応は脾臓の FCM には認めなかった。

【考察】我々の hADSC は FCM で高純度の間葉系幹細胞であり、亜急性期の多角的行動試験から運動機能を中心にうつ様症状や長期記憶の改善が示された。免疫染色と FCM から血腫周囲のマクロファージやマクログリアの絶対数が hADSC の投与により、脳内でのみ抑制されていることが示された。その抑制は CD163+細胞や Ly6G+細胞に代表される抗炎症細胞が中心に抑制されており、機序の一つとして考えられるが、なぜ脳局所だけに影響するのかは不明であり、今後の課題である。

【結語】hADSC の静脈投与は運動ならび認知機能の改善を認め、その機序のひとつとして脳内のマクロファージやミクログリアの抑制が関与する。hADSC は脳出血へ対する機能改善治療の一つに成り得るが、更なる検討が必要である。