

## 学 位 論 文 要 旨

研究題目 **Adipose-derived stem cell therapy inhibits the deterioration of cerebral infarction by altering macrophage kinetics**

(脂肪由来幹細胞治療は脳局所でのマクロファージ動態を変化させることにより脳梗塞の悪化を抑制する)

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 立林 洸太郎

はじめに：我々はヒト脂肪組織よりウシ胎児血清を用いて、ヒト脂肪由来幹細胞 (hADSC) を分離培養する方法を確立し、この hADSC による脳梗塞モデルマウスに対する神経学的後遺症の軽減効果を示してきた。最近、我々は将来の臨床応用を見据えて、従来の hADSC の分離培養法を改良し、無血清培地を用いた hADSC の分離培養法を確立した。本研究の目的は、無血清培養法によって分離培養された hADSC の静脈内投与が、脳梗塞モデルマウスの神経行動障害を改善するか否かを評価すると共に、そのメカニズムを検討することである。

方法：本研究は、兵庫医科大学倫理審査委員会の承認のもとに行われた。書面を用いて患者から同意を得た後、兵庫医科大学脳神経外科学における腹部手術の際に、腹部脂肪を採取し、脂肪組織から無血清培養を行って分離培養を行い、hADSC を誘導した。脳梗塞の誘導は 7-9 週令の CB17 系統マウスを用いて中大脳動脈永久閉塞 (MCAO) モデルを作成した。脳梗塞作成 24 時間後にモデルマウスに培養したヒト脂肪由来幹細胞を静脈注射し、手術後約 1 ヶ月から 2 ヶ月の間に hADSC 投与群、MCAO 群、シャム群の 3 群に分け、行動学試験を行った。行動学試験の後、手術後約 2 ヶ月の時点で脳の灌流固定を行い、脳萎縮についての評価を行った。hADSC 投与による脳梗塞病態に対する免疫調整作用の評価のために hADSC 投与群、MCAO 群に分け、それぞれ脳梗塞作成後 day4 の免疫染色用サンプル、day4、day8 の脳・脾臓 FACS 用サンプル、day4、day8 の血清サイトカイン測定用サンプルを採取し、検討を行った。

結果：分離培養された hADSC は間葉系幹細胞としての特徴を持ち、凍結融解過程によっても生存率が保持されていた。hADSC 静脈内投与は脳梗塞モデルマウスの慢性期における神経行動障害を改善し、脳萎縮を抑制していた。脳梗塞 hADSC 静脈内投与は血清サイトカインプロファイルに影響を及ぼさなかったが、脾臓中の CD11b+単球の数を減少させた。さらに hADSC 静脈内投与は、脳梗塞誘導 4 日後 (急性期) に、脳梗塞の境界領域への CD11b+CD163+M2 マクロファージの局所的集積を増加させた。

考察：無血清培養下で凍結保存された hADSC は間葉系幹細胞の特性を保持し、細胞製剤として使用可能であると考えられた。hADSC の静脈内投与は脳梗塞病変における M2 マクロファージによって媒介される急性免疫応答の調節作用により、脳への障害を軽減し、慢性期の神経学的後遺症を軽減すると考えられた。