

## 学 位 論 文 要 旨

### 研究題目

Intravenous Administration of Human Amniotic Mesenchymal Stem Cells in the Subacute Phase of Cerebral Infarction in a Mouse Model Ameliorates Neurological Disturbance by Suppressing Blood Brain Barrier Disruption and Apoptosis via Immunomodulation

(脳梗塞マウスモデルにおける羊膜間葉系幹細胞の静脈内投与による神経症状改善効果及びその機序に関する検討)

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 吉田 泰規

【背景】炎症反応は脳梗塞の病態形成において重要な役割を果たしている。近年、その炎症に対する免疫調節効果をもつ新規治療法として細胞治療が注目されている。特に羊膜幹細胞は、宿主からの拒絶反応や腫瘍化するリスクが低く、出生後に廃棄される予定の羊膜から入手できるため細胞治療の供給源として有望である。当院ではヒト羊膜由来間葉系幹細胞 (hAMSC) の安定した分離・培養に成功し、治療抵抗性クローン病における hAMSC の静脈内投与の有効性が検証されている。今回我々は、脳梗塞後の神経脱落症状に対する hAMSC の治療効果及びその作用機序をマウスモデルにおいて検討した。【方法】CB-17/Icr-+/+Jcl マウスにおいて中大脳動脈永久閉塞 (MCAO) 作成の翌日に hAMSC を静脈内投与し、2 日後に Evans Blue assay による血液脳関門破綻の程度の評価を、8 日後に RT-qPCR 法による炎症性サイトカイン (TNF $\alpha$ 、iNOS、MMP2、MMP9) の脳内発現量の評価、CD11b/c、iNOS の免疫蛍光染色による梗塞巣内マウロファージ浸潤の程度の評価、および TUNEL assay による脳梗塞辺縁での神経細胞のアポトーシスの程度の評価を実施した。また、症状改善効果に関しての行動テストは 3 か月後に行った。

【結果】hAMSC 投与により iNOS positive の M1 phenotype (炎症促進性) をもつマクロファージの梗塞巣周囲への浸潤は hAMSC 投与で抑制され、炎症性サイトカイン (TNF $\alpha$ 、iNOS、MMP9) の mRNA 発現量は hAMSC 群で有意に低かった。Evans Blue assay, TUNEL assay ではそれぞれ、hAMSC 投与による梗塞巣周囲での血液脳関門破綻の抑制効果と、亜急性期の apoptosis 抑制効果が示唆された。

【結論】脳梗塞発症翌日の hAMSC 静脈内投与は、炎症担当細胞の内、M1 phenotype (炎症促進性) を持つマクロファージを抑制し、炎症性サイトカイン産生の抑制を通じて梗塞巣の血液脳関門破壊と梗塞周辺領域のアポトーシスの減少効果をもたらし、最終的に慢性期での予後改善につながる可能性が示唆された。