



北海道公立大学法人
札幌医科大学
Sapporo Medical University

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title 論文題目	Intravenous infusion of mesenchymal stem cells enhances therapeutic efficacy of reperfusion therapy in cerebral ischemia. (脳虚血に対する再開通療法の治療効果を経静脈的骨髄間葉系幹細胞移植療法は高める。)
Author(s) 著者	清瀬, 亮
Degree number 学位記番号	甲第 3141 号
Degree name 学位の種別	博士 (医学)
Issue Date 学位取得年月日	2021-09-30
Original Article 原著論文	World Neurosurgery, Volume 149, May 2021, Pages e160-e169
Doc URL	
DOI	10.1016/j.wneu.2021.02.056
Resource Version	Publisher Version

学位論文の内容の要旨

報告番号	甲第 1507 号	氏名	清瀬 亮
論文題名			
Intravenous infusion of mesenchymal stem cells enhances therapeutic efficacy of reperfusion therapy in cerebral ischemia. 経静脈的骨髄間葉系幹細胞移植療法は脳虚血に対する再開通療法の治療効果を高める。			
研究目的			
<p>急性期脳梗塞に対する閉塞血管の再開通療法（血栓回収療法を含む）は、現在、前方循環の近位部閉塞を有する患者に対する標準的な治療戦略である。しかし、再開通療法の成功率は約 70%まで上昇しているにもかかわらず、発症 90 日後の modified Rankin scale (mRS) スコアが 3~6 である転帰不良例は半数を占めている。このため、再開通療法により脳血流が再開されたにもかかわらず転帰不良となる症例に対する新たな治療方法の開発が望まれている。一方、骨髄間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell: MSC) の静脈内投与は、脳梗塞に対して治療効果を発揮することが明らかになっており、治療機序の一つとして、投与された MSC による微小血管系の修復が示唆されている。</p> <p>本研究の目的は、(ア) 再開通療法により脳血流が再開されても転帰不良な症例に対する MSC の治療効果の検討、(イ) MSC による治療効果は、再開通療法により閉塞血管の再開通をあらかじめ得ておくことで、さらに増強されるかどうかを明らかにすることである。</p>			
研究方法			
<p>ラットの中大脳動脈を閉塞 (middle cerebral artery occlusion: MCAO)させ、永久閉塞モデル(permanent MCAO : pMCAO)と MCA を 110 分間閉塞させる一過性閉塞モデル(transient MCAO: tMCAO)を作製した。MCA を 110 分閉塞させることにより、tMCAO は試験期間中、pMCAO と脳梗塞体積、運動機能がともに同様の動向を示し、本研究ではこの実験系を用いた。実験群として、①pMCAO+Vehicle、②tMCAO+Vehicle、③pMCAO+MSC、④tMCAO+MSC の 4 群を設定し、MCAO 作製後 7 日目に MSC 投与群 (③と④) には MSC (1.0×10^6 個/1ml DMEM)を、Vehicle 投与群 (①と②) には細胞を含まない新鮮な培養液(1ml DMEM)を経静脈的に投与した。MSC 投与直前より行動学的機能 (トレッドミル)、梗塞部位の体積 (MRI による評価)、</p>			

arterial spin labeling (ASL) を用いた局所脳血流量 (rCBF) 評価を経時的に行い、さらに MCAO 作製後 49 日目に微小血管系の組織学的評価を行った。

研究成績及び考察

行動学的機能において、MSC 投与群 (③と④) では、④は③に比し、MCAO 作製後 14 日目から有意な改善が認められ、49 日目の観察終了まで続いた。Vehicle 投与群 ①と②では、観察期間中、有意差は認められなかった。同一モデル間で比較すると、tMCAO 群 (②と④) では、④は②に比し 14 日目から、pMCAO 群 (①と③) では 35 日目からそれぞれ有意差を認めた。MSC 投与群 (③と④) は Vehicle 投与群 (①と②) に比し有意な改善が認められたが、tMCAO (④) の方がより大きかった。梗塞部位の体積は 4 群間で有意差は認められなかった。局所脳血流量による評価において、Vehicle 投与群 (①と②) で比較すると、MCAO 作製後 7 日目から 11 日目、49 日目で②が①より有意に局所脳血流量が豊富であった。MSC 投与群 (③と④) では 7 日目から 11 日目、42 日目、49 日目で④が③より有意に豊富であった。tMCAO 群 (②と④) では、④は②に比し 28 日目、42 日目、49 日目で有意に豊富であった。pMCAO 群 (①と③) では、③は①に比し、42 日目、49 日目で有意に豊富であった。よって局所脳血流量評価において④が最も豊富であることが示された。微小血管系の組織学的評価において、pMCAO、tMCAO の各群間において MSC 投与群 (③と④) が Vehicle 投与群 (①と②) より有意に微小血管系が保存/修復されていることが示された。また、④は③より有意に保存/修復されていたが、②と③に有意差は認められなかったことから MSC を投与しない再開通療法のみでは微小血管系の保存/修復が不十分であることが示唆された。よって④が最も微小血管系の保存/修復が大きかった。この結果は ASL を用いた局所脳血流量評価の 49 日目の結果と類似していた。

以上より、ラット MCAO モデルにおいて、(ア) MSC の経静脈的投与は、再開通療法により脳血流が再開されたにも関わらず転帰不良を呈する症例に対しても、治療効果を発揮すること、(イ) MSC の経静脈的投与による治療効果は、あらかじめ閉塞血管を再開通しておくことにより、さらなる治療効果が得られることが判明した。また治療メカニズムの一つに、脳梗塞によって損傷を受けた微小血管系を、MSC が修復することが示唆された。

論文審査の要旨及び担当者

(2021年9月30日授与)

報告番号	甲第 1507 号	氏 名	きよせ りょう 清瀬 亮
論文審査 担 当 者	主査 本望 修 教授	副査 三國 信啓 教授	
	副査 川原田 修義 教授	委員 石合 純夫 教授	

論文題名	Intravenous infusion of mesenchymal stem cells enhances therapeutic efficacy of reperfusion therapy in cerebral ischemia. (脳虚血に対する再開通療法の治療効果を経静脈的骨髄間葉系幹細胞移植療法は高める。)
結果の要旨	<p>中大脳動脈閉塞(MCAO)モデルに対する MSC の経静脈的投与は、再開通療法により、脳血流が再開されたにも関わらず、転帰不良を呈する症例に対しても治療効果を発揮すること、MSC の経静脈的投与による治療効果は、あらかじめ閉塞血管を再開通させておくことにより、さらなる治療効果が得られることが判明した。その治療メカニズムの一つとして、脳梗塞によって損傷を受けた微小血管系を MSC が修復することが示唆された。</p> <p>ラットの中大脳動脈を閉塞させ、永久閉塞モデルと一過性閉塞モデルに対する骨髄間葉系幹細胞(MSC)移植療法の比較解析を行った研究はほぼなく、治療効果を示した本研究は先駆的で独創的な研究だと言える。また、MSC を投与する際、急性期脳梗塞に対する標準的な治療戦略である再開通療法と組み合わせることによってさらなる治療効果が得られることが判明した。このことは、急性期の積極的治療戦略の構築に貢献し、その社会的意義は大きいと考えられる。</p> <p>以上の研究結果および質疑応答を踏まえ、博士(医学)の学位授与に値すると審査委員全員に認められた。</p>