

## 歯髄幹細胞移植による新しい脳梗塞治療の開発

仁藤智香子

日本医科大学大学院医学研究科 神経内科学分野

### 【研究の背景】

近年、脳梗塞に対する細胞移植療法が注目されており、ES 細胞、iPS 細胞、骨髓間葉系幹細胞等による治療が検討されてきた。しかし、実用化に関しては倫理面や移植安全面、移植細胞の低生着率、細胞採取における生体侵襲性など多くの問題が指摘されている。一方で、歯髄幹細胞 (dental pulp stem cells: DPSC)<sup>1)</sup> は高い分化・増殖能を持ち、免疫原性も低いとされており、前述の問題を回避しうる新しい幹細胞として期待できる。近年、脳梗塞モデルに対する DPSC 移植が慢性期における梗塞部位の修復や運動機能回復を促進する可能性のあることが報告されている。

### 【目的】

我々は歯髄幹細胞移植に着目し、その血管内投与による脳梗塞治療効果を検討した。

### 【方法】

雄性 SD ラットを用い、90 分間中大脳動脈閉塞後に再灌流した。治療群は、対照群 (PBS)、DPSC  $1 \times 10^6$  個 動注 (I.A.) の 2 群に分け、血流再灌流直後に投与した。虚血再灌流 24 時間後に神経学的徵候を評価後断頭し、TTC 染色を行った。

- 1) 一過性局所脳虚血モデル: 雄性 SD ラットの中大脳動脈にナイロン糸を挿入し、90 分間閉塞した後に糸を抜き、血流を再灌流させた<sup>2)</sup>。
- 2) 細胞の移植方法: 虚血再灌流 1 時間後に、移植細胞を内頸動脈より 3 分以上かけて投与した。細胞治療群は、I. Vehicle 群、II.  $1 \times 10^5$  個 DPSC 群、III.  $1 \times 10^6$  個 DPSC 群の 3 群に分け、対照群には PBS を同用量投与した。
- 3) 移植細胞の評価: 増殖細胞の標識として PKH 染色 (細胞膜を標識) を用い、染色した DPSC を投与して脳内への生着を評価した<sup>3)</sup>。
- 4) 脳梗塞体積の評価: 断頭後、脳を 2mm 幅でスライスし、TCC 染色を行った。各々の切片の梗塞面積を NIH image software を用いて測定し体積を算出した<sup>4)</sup>。
- 5) 運動機能評価: 虚血再灌流 24 時間後の神経兆候を Bederson 法によって評価した<sup>5)</sup>。

### 【結果】

投与前の DPSC 生存率は 80% 以上であった。また、PKH 觀察において、再灌流後 1 時間および 24 時間とともに、皮質梗塞境界領域に生着している DPSC が確認された。虚血再灌流 24 時間後における DPSC 動脈投与による治療効果においては、対照群にくらべて DPSC を  $1 \times 10^5$  個投与した群では梗塞・浮腫ともに有意な縮小効果は認めず、さらに  $1 \times 10^6$  個に増量しても縮小効果は認められず、むしろ増悪する傾向を認めた。再灌流 24 時間後における神経徵候も有意な改善を認めなかつた。

## 【考 察】

ラット一過性局所脳虚血モデルにおいて、DPSC の経動脈的投与では虚血再灌流 24 時間後における梗塞体積縮小や神経兆候の改善は認めなかつたが、その一因としては、比較的サイズの大きな細胞を動脈投与することにより、脳細動脈を閉塞させる可能性が考えられた。以上のことより、DPSC 移植方法としては、経動脈的投与よりも経静脈的投与のほうが望ましい可能性があると考えられた。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

脳梗塞は重篤な機能障害をもたらすが、その病態は複雑であり有効な治療法も限られている。移植安全性の高い DPSC はヒト脱落乳歯や親知らずなどの医療廃棄物から採取可能であり、医療応用における倫理的ハードルが低いと考えられる。また、移植細胞の血管内投与はより臨床に即した治療法である。本研究により DPSC の治療効果と移植安全性が明らかとなれば、脳梗塞治療における新たな治療戦略の樹立へつながり、増加の一途をたどる虚血性脳血管障害の臨床に多大に貢献するものと考えられる。

## 【参考・引用文献】

- (1) Gronthos S et al. (2000) *Proc Natl Acad Sci USA* 97:13625-13630
- (2) Nito C et al. (2003) *Internal Congress Series* 1252:109-115
- (3) Messina LM et al. (1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89:12018-12022
- (4) Maier CM et al. (1998) *Stroke* 29:2171-2180
- (5) Bederson JB et al. (1986) *Stroke* 17:472-476