

脳梗塞に対する細胞治療研究—TSPO-PET による神経炎症抑制作用の評価

譚 成博

北海道大学大学院医学研究科 神経病態学講座 脳神経外科学分野

【研究の背景】

近年、わが国では脳卒中の救命率が改善しているものの、重篤な神経症状を後遺して日常生活に多大な支障をきたしている患者は増加している。脳梗塞後遺症に関する問題点は、脳組織がひとたび障害を受けるとその再生が非常に困難であるということにつきる。後遺症としての神経症状の改善を見込める治療は、現状ではリハビリテーションだけであるが、その治療効果には限界があり、現在では再生医療の可能性がひろく模索されている。とりわけ骨髄間質細胞 (Bone Marrow Stromal Cell; BMSC) は、神経系細胞分化や栄養因子分泌の能力を持ち、中枢神経の再生医療に適した細胞ソースとして期待されている。脳梗塞に対する BMSC 移植の臨床研究が開始されつつあるが、最近、その作用機序の一つとして脳虚血後の過剰な炎症状態の抑制に関心が持たれている。

脳梗塞では、虚血により神経細胞に供給される酸素とグルコースが大幅に減少し、神経細胞死が惹起される。さらに虚血性変化のみならず、発生後、次第に梗塞周辺組織に炎症性変化を引き起こしていく。梗塞巣周囲の microglia から産生された腫瘍壊死因子 (TNF)、インターロイキン (IL)-1、IL-6 などの炎症メディエーターが血管内皮細胞機能障害を起こし、梗塞組織の炎症反応が進行していく。

最近、神経炎症のバイオマーカーとして、Translocator protein (TSPO) が PET イメージングで応用されるようになってきた。TSPO は末梢組織に遍在し、中枢神経系ではその発現量が少ないが、ひとたび損傷が生じると TSPO は microglia の活性化と一致して脳損傷部周辺に集積する。

【目 的】

BMSC の脳障害改善作用について、BMSC の炎症抑制作用の観点から病理組織学的な検討を行うとともに、PET/SPECT 炎症イメージング剤 (18F-DPA714: TSPO リガンドの標識体) を合成し、動物モデルでの評価を行う。

【方 法】

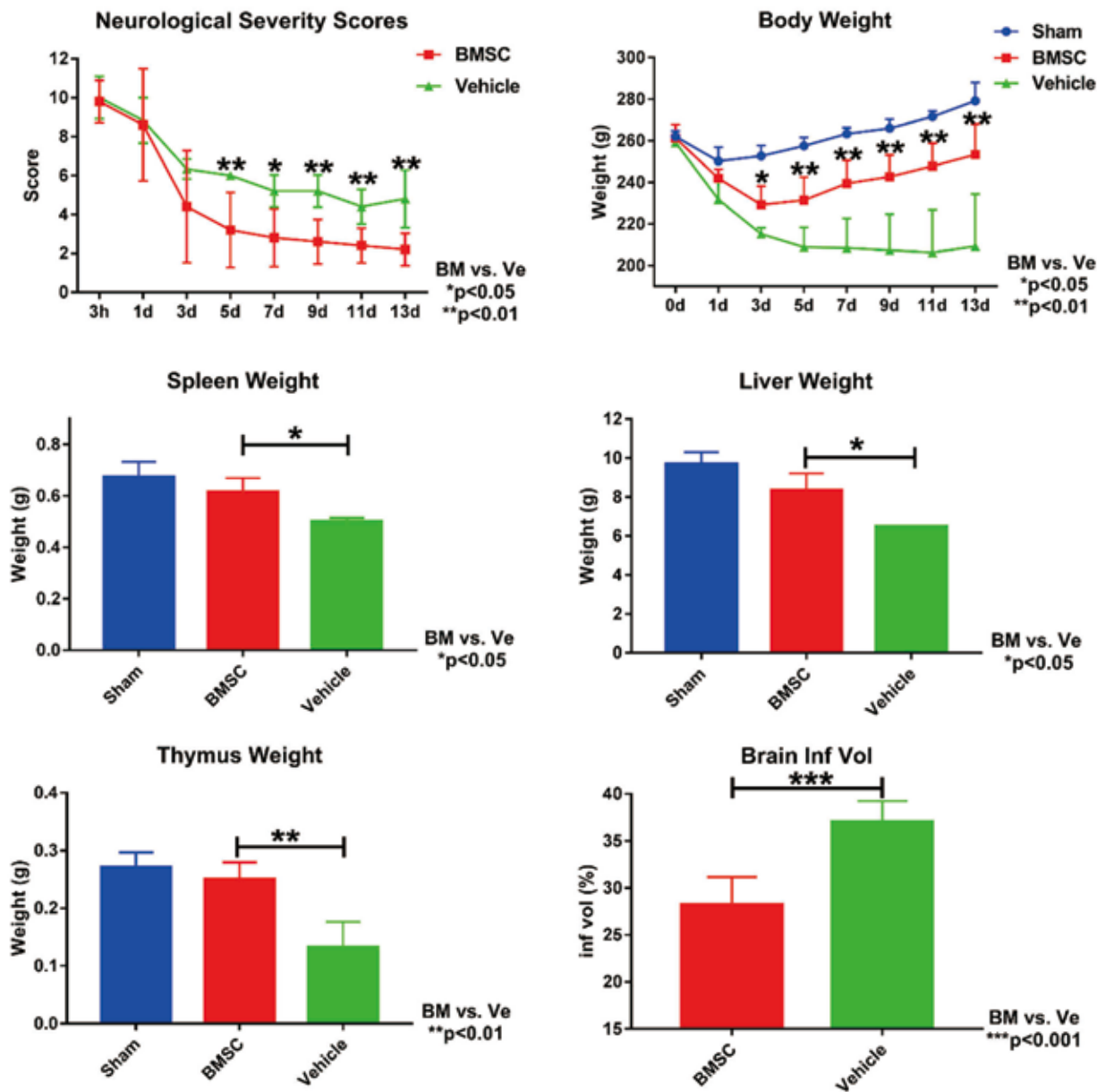
1. F344 ラットから骨髄細胞を分離し、BMSC を培養する。3 回継代を行う。
2. ラット脳梗塞モデルには、一過性中大脳動脈閉塞モデル (tMCAO) を用いる。F 344 ラットの片側の頸部内頸動脈から栓糸を挿入し、120 分間血管を遮断したのち、再開通させる。また BMSC 移植は、0.5ml (4x10⁶cell) BMSC 懸濁液を大腿静脈内へ投与する。
Sham 群: Sham 手術
Vehicle 群: tMCAO + 生食
BMSC 治療群: tMCAO + BMSC (虚血 3 時間後)
3. 各グループのラットは神経学的評価と、組織学的評価として脾臓、胸腺、リンパ節、肝臓、脳組織を取り出し組織重量や脳梗塞面積の測定、免疫染色を行う。
4. 一部のラットは北海道大学アイソトープ総合センターの小動物用 PET/CT を用いて、TSPO-PET を行う。イソフルラン麻酔下にてラットの尾静脈から 18F-DPA714 (11 MBq) を投与し、投与 30 分後に PET 撮像を行う。投与 3 時間後に

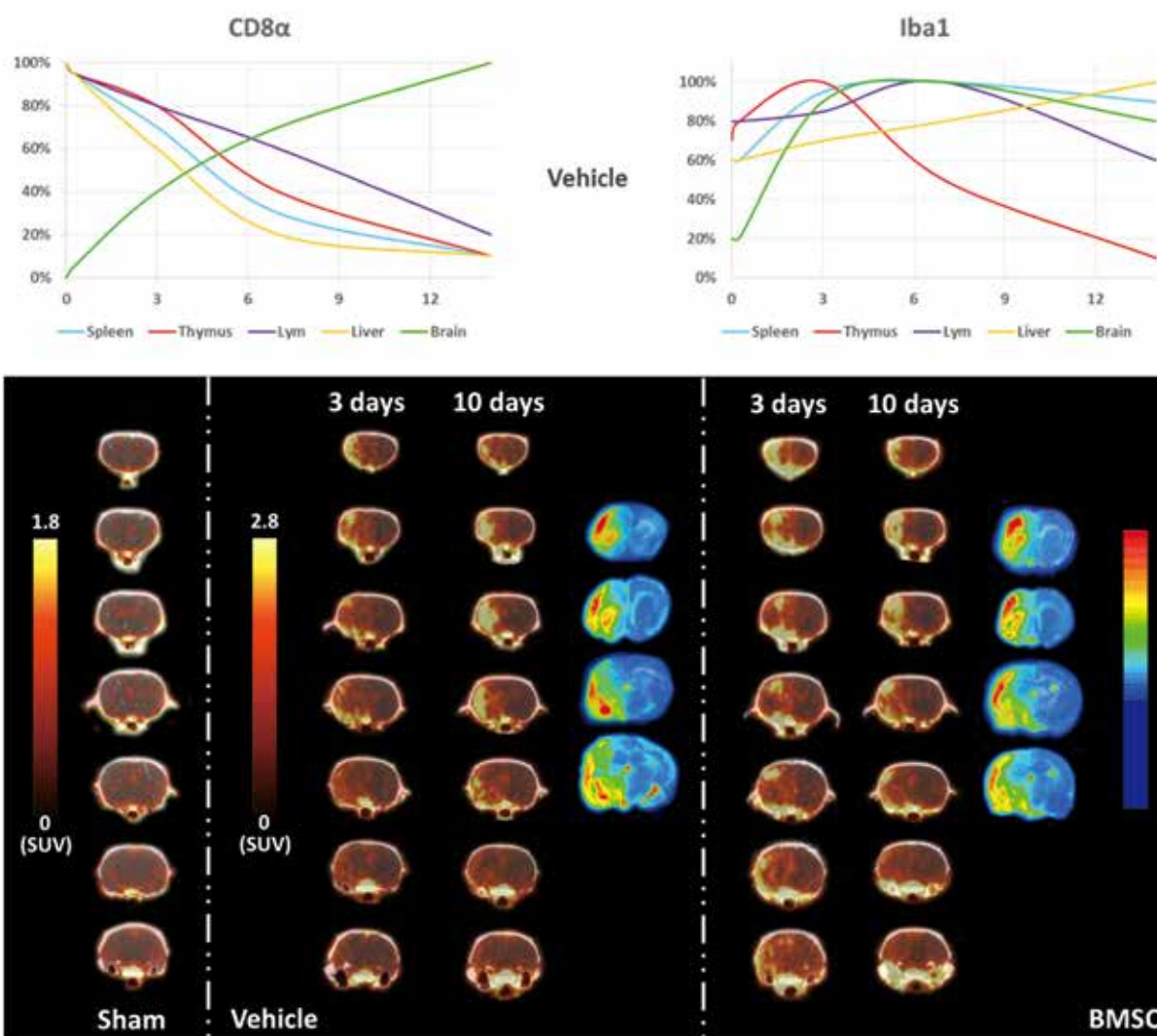
麻酔下、心臓より全採血で屠殺し、脳組織を摘出する。脳を 6 分割し、鼻側から 1、2、5、6、番目スライスを TTC 染色に、3、4 番目スライスを ARG に提供する。

5. これらサンプルをもちいて、脳組織の ARG や病理学的検討を行い、PET 画像解析結果と比較する。

【結 果】

Vehicle 群では脳梗塞後、ラットの体重と各免疫器官の重さが減少した。免疫器官では $CD8\alpha$ (+)T 細胞の減少がみられたが、脳梗塞周辺では $CD8\alpha$ (+)T 細胞とマクロファージが増加していた。BMSC 群は神経学的機能、体重、各免疫器官の重量、梗塞面積などで有意な改善が見られた。PET と ARG の所見では、両群とも梗塞部位に 18F-DPA-714 が集積していた。梗塞 3 日目に比べ 10 日目は集積値が上昇したが、BMSC 群ではその程度が抑制されていた。





【考 察】

脳虚血後、全身の免疫器官から炎症細胞が脳内へ遊走し、炎症メディエーターにより障害が増悪したが、BMSC 投与により過剰な炎症反応が抑制された。また、¹⁸FDP-714 PET は脳内の炎症生変化の評価に有用であった。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

近年、全身免疫応答の脳梗塞病態への関与と、それをターゲットとした細胞治療に関心が高まっている。一方、TSPO の分子イメージングは神経炎症マーカーとして注目されているが、これを細胞治療の評価に利用した研究報告はない。本研究では TSPO-PET を中心に据え、BMSC 移植後の脳虚血に伴う炎症反応の抑制作用、ひいては神経保護作用、全身免疫器官活性化の抑制作用、全身免疫応答の脳梗塞への関与などを検討する。これらの結果は、脳梗塞に対する BMSC 移植治療戦略に大きな影響を与えるものと期待される。