

出血性脳梗塞モデルにおける歯髄由来幹細胞の治療効果の検討

須田 智

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】

骨髄由来幹細胞は、ES 細胞や iPS 細胞と比較すると、倫理面や安全性に優れ、国内外のいくつかの施設で、すでに臨床試験が行われている¹⁾。しかし、採取の際に骨髄穿刺を要するため、脳卒中急性期での生体侵襲の問題や、また高齢患者では、十分量の細胞採取が困難であることなどの問題がある。これらの問題を回避しうる幹細胞ソースとして歯髄幹細胞 (Dental Pulp Stem Cells: DPSC) が注目されている。DPSC は、脱落乳歯や智歯 (親知らず) から採取出来るため、最小限度の生体侵襲で採取可能な体性幹細胞である。DPSC は、骨髄間葉系幹細胞に特有な細胞表面抗原マーカー (CD73, CD90, CD105) を共発現し、更に未分化神経系マーカー (Nestin, Doublecortin, NeuN, CNPase など) も共発現している。神経誘導にも高い反応性を示し、骨髄由来間葉系幹細胞に比べて高い増殖能を示す。健常動物を使用した脳虚血モデルに対する DPSC の検討は、少数ながらも報告されている。米国の Stroke Therapy Academia Industry Roundtable (STAIR) は、健常動物で良好な結果が出た場合でも、糖尿病や高血圧を有した動物、つまり疾患モデルでの効果の再現性を検討することを推奨しているが²⁾、DPSC での報告はない。

【目 的】

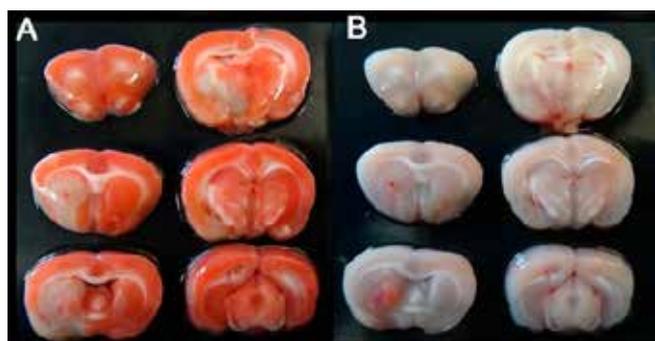
脳梗塞急性期における再開通療法の発展は著しく、従来の治療であれば寝たきりになる患者を劇的に改善させる。一方で、再開通までに時間を要した場合や高血糖を合併している患者は、症状を改善させないばかりか、時に出血を合併し転帰不良となりうる。本研究では、高血糖病態ラットを用いて虚血再灌流を行うことで、出血性脳梗塞モデルを作成し、新たな幹細胞ソースとして注目される歯髄由来幹細胞移植を行い、治療効果を検討したい。

【方 法】

2 型糖尿病を呈する 8 週齢の雄性 GK (Goto-Kakizaki) ラットを用いて、ハロセン麻酔下に血管内栓糸法³⁾を用いて、中大脳動脈閉塞モデルを作成する。梗塞 24 時間後に梗塞体積、神経徴候 (麻痺、姿勢異常、自発運動) を評価するとともに、梗塞内出血性変化が生じているかを確認する。中大脳動脈閉塞時間は、3 時間、4.5 時間、6 時間を行い、出血性変化の生じる割合を算出する。

【結 果】

3 時間の閉塞、4.5 時間の閉塞では、梗塞内に出血性変化は殆ど認めなく、それぞれ 10%、20%程度であった。6 時間の閉塞後に再灌流させたモデルでは、TTC 染色で示される梗塞体積は、我々が従来、使用してきた SD ラットでの梗塞と比較して小さく、皮質には殆ど梗塞を認めなかったが(図 A)、作成したモデルの 80%に線条体に出血性変化を認め(図 B)、更に重度の神経徴候を呈した。



【考 察】

従来、我々が使用してきた SD (Sprague Dawley) ラットと比較して、本モデルでは梗塞体積は小さかったが、これは種の違いによる側副血行の違いに由来する可能性が考えられた。しかしながら、本モデルは、梗塞体積の割に麻痺・姿勢異常・自発運動の低下などの神経徴候は重度であり、また高率に線条体に出血性変化を認めた。rt-PA を投与することで出血性変化を生じさせるモデルがあるが、死亡率が高く、長期的な観察は困難である。しかし、本モデルでは、死亡率は低いため、より長期の観察にも用いることが出来ると考えられた。今後は、本モデルを用いて、DPSC 投与の有効性について、検討していく予定である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

脳卒中による死亡者は年間約 12 万人で、我が国の死亡原因の第 4 位を占めており、生存者にも後遺症が残存し、要介護者の最大の原因疾患である。人口構造の急速な高齢化に伴い、脳卒中患者数は増加しており、経済的・社会的な大きな問題となっており、新たな治療法の開発は急務である。最近の 5 つの血管内治療の臨床試験の結果から、発症 6 時間以内の頭蓋内動脈前方循環閉塞症例に対する血管内治療の有効性が確認された。しかし、3ヶ月後の mRS0-2 の転帰良好患者は全体の 45%程度に留まっている。今後は、血管内治療による出血合併症を防ぎながら、治療効果を更に向上させる治療法の開発が期待される。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とつながり、脳梗塞の臨床に貢献するものと考えられる。

【参考・引用文献】

- 1) Cell Therapy against Cerebral Stroke: Comprehensive Reviews for Translational Researches and Clinical Trials. Springer, Houkin K, Abe K, Kuroda S (editors) 2017.01
- 2) Fisher M, Feuerstein G, Howells DW, Hurn PD, Kent TA, Savitz SI, et al. Update of the stroke therapy academic industry roundtable preclinical recommendations. *Stroke*. 2009;40:2244-2250
- 3) Suda S, Katsura K, Kanamaru T, Saito M, Katayama Y. Valproic acid attenuates ischemia-reperfusion injury in the rat brain through inhibition of oxidative stress and inflammation. *Eur J Pharmacol*. 2013;707:26-31