

論文内容要旨

Autologous Bone-Marrow Mesenchymal Stem Cell Implantation and Endothelial Function in a Rabbit Ischemic Limb Model

(ラビット下肢虚血モデルに対する自家骨髄間葉
系幹細胞移植は血管内皮機能を改善する)

PLoS ONE, in press.

主指導教員：木原 康樹教授
(応用生命科学部門 循環器内科学)

副指導教員：東 幸仁教授
(原爆放射線医科学研究所 ゲノム障害病理)

副指導教員：石田 隆史講師
(応用生命科学部門 循環器内科学)

三上 慎祐

(医歯薬学総合研究科展開医科学専攻)

末梢動脈疾患は心血管疾患の高い罹患率や死亡率と関連している。末期の末梢動脈疾患では組織への血流減少が潰瘍や壊疽を引き起こす。動脈硬化性疾患で切断を余儀なくされる患者には残念ながら代わりとなる治療はない。動物実験モデル、ヒトにおいて骨髄単核球細胞移植は虚血肢に血管新生を引き起こし治療となりうる。しかし、骨髄細胞の採集量は多く、全身麻酔下で行うため、心筋梗塞や心不全、脳血管疾患を引き起こす可能性がある。一方、間葉系幹細胞は内皮細胞、血管平滑筋細胞を含む多種の細胞に分化し得る。また、骨髄や末梢血から容易に分離でき、*ex vivo*にて迅速に培養することができる。動脈硬化は血管内皮機能障害を第一段階として発症、進展し、さらに進行すれば心血管合併症を惹起すると考えられている。虚血肢は内皮障害に関連しているものと考えられる。最近我々は骨髄単核球細胞移植により末梢動脈疾患の患者において内皮機能を改善することを示した。今回我々はラビットの下肢虚血モデルにおいて自家骨髄間葉系幹細胞が内皮機能を改善することができるかどうかを検討した。

40匹のラビットを無作為に間葉系幹細胞移植群($n=20$)と生理食塩水を注入する対照群($n=20$)に分けた。自家骨髄はラビットの腸骨より採取し、1か月間培養を行った。大腿動脈を結紮して下肢虚血モデルを作成し、7日後に間葉系幹細胞(1 mlあたり 10^6 個)を移植し、対照群には生理食塩水を注入した。1ヶ月後に Laser Doppler perfusion image (LDPI)、血管造影を施行し Angiographic score を算定した。また組織学的な検討も施行した。内皮細胞を CD31 を用いて、また骨髄間葉系幹細胞を enhanced green fluorescent protein(EGFP)を用いて染色した。内皮機能の検討として、内皮依存性の血管拡張薬であるアセチルコリンに対する下肢血流と内皮非依存性の血管拡張薬であるニトロプルシドに対する下肢血流、nitric oxide synthase inhibitor である NG-nitro-L-arginine に対する下肢血流を測定した。間葉系幹細胞は1ヶ月後までに 10^{12} 個まで容易に増殖した。間葉系幹細胞移植後の Angiographic score は対照群に比較して間葉系幹細胞移植群で有意に高値を示した。間葉系幹細胞移植後の capillary index (capillary/muscle fiber) は対照群に比較して間葉系幹細胞移植群で高値を示した。(35.1 ± 3.7 vs. 22.2 ± 7.8 and 1.27 ± 0.08 vs. 0.71 ± 0.22 , $P < 0.001$) Laser Doppler blood perfusion index は対照群と比較して間葉系幹細胞移植群で有意に高値を示していた。組織学的検討では間葉系幹細胞移植後1カ月で虚血肢に内皮細胞の増加が認められた。アセチルコリンに対する下肢血流反応は対照群と比較して間葉系幹細胞移植群で有意に増加していた。ニトロプルシドに対する下肢血流反応は両群で同等であった。一方 NG-nitro-L-arginine を注入するとアセチルコリンに対する下肢血流は両群で同等であった。間葉系幹細胞移植群では血管内皮依存性の血管拡張が認められ、NG-nitro-L-arginine では両群に差を認めなかった。これらは NO の産生の増加による血管内皮機能の改善を示しているものと考えられた。

ラビット下肢虚血モデルにおいて間葉系幹細胞の移植は血管新生を増加させ、内皮機能を増大させる。