

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 齋藤 久泰

学 位 論 文 題 名

核医学的手法を用いたラット脳梗塞に対する骨髄間質細胞移植の治療効果判定法の確立

(Application of nuclear imaging in assessing therapeutic effects of bone marrow stromal cell transplantation for ischemic stroke in rats)

【背景】間葉系細胞の一種である骨髄間質細胞(bone marrow stromal cell : BMSC)は、骨・軟骨・脂肪細胞などの中胚葉系細胞ばかりでなく、胚葉を超えて肝細胞や神経細胞にも分化しうることが知られている。これまでの多くの基礎研究により、脳梗塞や脊髄損傷に対する BMSC 移植が、移植した細胞の神経系細胞への分化、損傷組織の保護や修復効果をもつ数多くの液性因子の分泌、損傷された神経回路の再生促進など、様々なメカニズムを介して神経機能の改善を促すことがわかっており、脳梗塞などの中枢神経疾患に対する BMSC 移植が国内外で小規模な臨床試験として開始されつつある。しかしながら、中枢神経の再生を目的とした BMSC 移植を新規の治療法として厳格な臨床試験を経て、実際に臨床応用するためには、いまだに解決しなければならない課題も残されているのが現状である。脳梗塞に対する BMSC 移植の治療効果を評価する際は機能予後のほかに、移植されたホスト脳の脳機能変化を画像化できれば治療効果の判定に有益であると考えられるが、未だ有効な治療効果判定法が確立されていない。客観的で非侵襲的な画像評価による治療効果判定法を確立することが、臨床応用に向けての重要な課題の一つである。

一方、中枢神経系疾患の臨床において、脳循環や代謝、受容体機能などの評価に、高い感度と定量性を有する PET や SPECT といった核医学イメージングが有用であり、広く用いられている。¹²³I-*iomazenil* (IMZ) は、抑制性神経伝達の主要な部分を担う γ -アミノ酪酸 (GABA) 受容体と複合体を形成する中枢性ベンゾジアゼピン受容体 (BZR) に高い親和性で結合する核種であり、¹²³I-IMZ SPECT は、脳内中枢性 BZR 結合能を反映した画像を呈する。虚血性脳疾患に関しては、脳梗塞周囲皮質や不完全梗塞部位において、selective neuronal loss を反映して、¹²³I-IMZ の集積が低下することが報告されている。また、基礎研究では、¹²⁵I-IMZ In Vitro Autoradiography を用いた過去の報告で、マウス脳梗塞に対する BMSC 移植が、脳梗塞周囲皮質における神経細胞特異的な受容体機能を回復させる可能性が示唆されている。

【目的】ラット脳梗塞モデルに対して ¹²³I-IMZ SPECT により継時的に神経細胞の viability をモニタリングできうるか、また、BMSC 移植治療効果を評価できうるか検証することを目的とした。

【方法】生後 8 週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットを用いて中大脳動脈永久閉塞モデルを作成した。ラットの右前頭側頭部の開頭を行い中大脳動脈の本幹を糸で結紮、凝固切断して完全閉塞させた後に、側副血行路の遮断のために両側総頸動脈を 1 時間閉塞させる手法を用いた。BMSC は green fluorescence protein (GFP) を発現させたトランスジェニックラットの大腿骨から全骨髄液

を採取し培養を行い、3回継代した細胞を用いた。中大脳動脈閉塞7日後に、GFP-BMSC (1×10^6 cells) を同側線条体に定位的に移植した。移植前日と移植4週間後に、BMSC直接移植群 (n=10) と vehicle 移植群 (n=8) で、小動物用 SPECT・PET/CT 装置(Inveon, Siemens)を用いて ^{123}I -IMZ SPECT を実施した。脳梗塞周囲皮質、脳梗塞中心部、線条体の3領域で患側と健側に直径 1.5mm の円形 regions of the interests (ROI)を置き、 ^{123}I -IMZ の集積を半定量的に測定した。各領域ごとに患側/健側比を測定し、移植前後の比較をした。運動機能は、ロータロッド試験を用いて継時的に評価した。また、移植5週後に脳を摘出して、GABA 受容体、NeuN、GFP に対する蛍光免疫染色を用いて、移植細胞の生着や宿主脳の神経細胞変化について組織学的な検討を行った。

【結果】運動機能は、中大脳動脈閉塞後から BMSC 群、Vehicle 群ともに重度の障害がみられたが、移植4週間後に BMSC 群において有意な改善が認められた ($p < 0.05$)。 ^{123}I -IMZ 集積の患側/健側比は、脳梗塞近傍の背側新皮質において、移植前は BMSC 群、vehicle 群で $53.4 \pm 17.3\%$ 、 $58.6 \pm 24.8\%$ と低下していた。移植4週間後、各群での値は $77.3 \pm 16.2\%$ 、 $59.5 \pm 20.1\%$ と、BMSC 移植群で有意に上昇しており、脳梗塞周囲皮質の神経細胞の viability 改善を招いたと考えられた ($p < 0.01$)。他の2領域については、同様の変化は見られなかった。組織学的には、GFP 陽性細胞は脳梗塞周囲に多く集簇しており、その一部は GABA 受容体や NeuN と共陽性を示した。

【結語】脳梗塞に対する BMSC 移植は、神経細胞の viability を改善させて運動機能の改善に寄与する可能性が示唆された。 ^{123}I -IMZ SPECT は臨床においても、BMSC 移植の治療効果判定に有用である可能性がある。