

## 論文審査の結果の要旨

### Impact of Dental Pulp Stem Cells Overexpressing Hepatocyte Growth Factor after Cerebral Ischemia/Reperfusion in Rats

ラット脳虚血/再灌流モデルにおける HGF 強発現歯髄幹細胞移植の脳保護効果

日本医科大学大学院医学研究科 神経内科学分野  
大学院生 岨 康太

Molecular Therapy - Methods & Clinical Development, 10 巻 281-290 頁, 2018 年掲載

従来、歯髄幹細胞 (DPSCs) 移植の脳梗塞に対する治療効果が報告されており、その作用機序として、DPSCs に由来する種々のサイトカインや成長因子のパラクライン効果が、脳保護に関与していると考えられている。また、肝細胞増殖因子 (HGF) は、様々な病態で抗アポトーシス、抗炎症、血管新生作用を示すことが知られており、脳梗塞においては血液脳関門障害の抑制や神経保護効果が示唆されている。

今回、染色体へのゲノム挿入リスクが低いアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いて安全にヒト HGF 発現を強化させたヒト DPSCs (DPSCs/*HGF*) をラット一過性脳虚血モデルに経静脈的に移植し、遺伝子導入を行っていない DPSCs の移植と比較して、脳保護効果が增強されるか否かを検討した。90 分間脳虚血の再灌流直後に  $1 \times 10^6$  個の治療細胞を移植したラットにおいて、再灌流 7 日後の脳梗塞体積と神経徴候を評価したところ、DPSCs/*HGF* 群では従来の DPSCs と比べて、有意な梗塞体積の縮小を認め、片麻痺や姿勢異常等の神経徴候が改善した。HGF 発現を強化することにより DPSCs の炎症制御効果が高まったことが想定されたため、再灌流 72 時間後に炎症状態を解析した。虚血側大脳半球において、DPSCs/*HGF* 群では DPSCs 単独群と比べ、HGF 発現が有意に増加しており、活性化ミクログリアである Iba-1 陽性細胞が減少し、炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  や IL-1 $\beta$  の発現も有意に抑制された。また、Fluoro-Jade C 染色を用いた神経細胞死の評価において、DPSCs/*HGF* 群では、皮質梗塞境界領域における変性した神経細胞の数が、DPSCs 単独群に比べて有意に減少していた。これらの結果から、DPSCs の炎症制御作用の増強によって神経細胞死が抑制されることが示唆された。さらに、血液脳関門の障害に対する効果を評価したところ、DPSCs/*HGF* 群は DPSCs 単独群と比べて、Evans blue 色素の血管外漏出量が有意に減少し、tight junction 構成タンパク質の ZO-1 や occludin 発現量が増加していた。また、再灌流 14 日後においては、脳微小血管密度の有意な増加を認め、血液脳関門障害の軽減により神経保護効果が增強されたことが示唆された。DPSCs/*HGF* の安全面に関しては、移植後に長期間宿主内に生存しないことや、再灌流 72 時間後では HGF の血清中濃度は検出限界以下で虚血脳組織での局所的な上昇であったことが示された。従って、HGF 過剰発現に伴う発がん等の副作用リスクは低いと考えられた。二次審査では、DPSCs に HGF 遺伝子を導入する体外法遺伝子治療が、AAV ベクターを直接投与する体内法と比べた場合の利点、DPSCs および HGF が脳保護作用を示す機序、今後の臨床応用への可能性等に関して質疑が行われ、的確な回答がなされた。

以上から、HGF 発現を強化した DPSCs の炎症制御作用や血液脳関門の保護的効果が示され、脳梗塞急性期における臨床的效果に繋がることが期待された。この研究成果は、様々な間葉系幹細胞の機能強化による新たな脳梗塞治療法の可能性を示すものであり、学位論文として十分に価値あるものと認定した。