

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	木谷 由希絵
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目			
The therapeutic effect of CD133 <sup>+</sup> cells derived from human umbilical cord blood on neonatal mouse hypoxic-ischemic encephalopathy model  (新生児低酸素性虚血性脳症モデルマウスに対するヒト臍帯血由来 CD133 陽性細胞投与の治療効果)			
論文審査担当者			
主査	教授	小林 正夫	印
審査委員	教授	河本 昌志	
審査委員	教授	志馬 伸朗	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>脳性麻痺は発達中の中枢神経の損傷による非進行性の運動機能異常であり，生涯にわたりその神経学的後遺症は継続する。脳性麻痺の原因としては，成熟児で起こる低酸素性虚血性脳症，低出生体重児や未熟児に発症する脳室周囲白質軟化症，核黄疸，遺伝的要因などがある。そのなかで分娩時に発症する脳性麻痺の主な原因が低酸素性虚血性脳症である。新生児低酸素性虚血性脳症の患児では 15 - 20%が新生児死亡を来し，生存した患児の約 30%は脳性麻痺，精神発達遅延，てんかんなどの神経学的後遺症を残す。近年の周産期医療の進歩にもかかわらずその発生率は 1 - 5/1000 人とこの数十年間で改善を認めていない。新生児低酸素性虚血性脳症に対する治療法として，頭部や全身を冷却する脳低温療法や低体温療法が行われており，一定の成果が得られているが不十分な例も多い。そのため，さらなる新生児低酸素性虚血性脳症に対する予防・治療法の開発が求められている。近年では幹細胞やその前駆細胞を用いて種々の治療法が開発がなされている。その中で血管内皮前駆細胞である CD133 陽性細胞（CD133<sup>+</sup>細胞）は成人の心筋虚血や脳虚血の分野で血管発生や虚血性病変の保護および再生を促進する作用を持つことが知られている。この研究ではヒト臍帯血より CD133<sup>+</sup>細胞を採取し，新生児低酸素性虚血性脳症モデルマウスに投与してその効果を検討した。Rice-Vanucci モデルを応用し，7 生日の免疫不全マウスの左頸動脈を結紮し，8%の低酸素に曝露して新生児低酸素性虚血性脳症モデルを作成した。CD133<sup>+</sup>細胞は磁気抗体である CD133 Microbeads<sup>®</sup>でラベルし，自動磁気分離装置を用いてヒト臍帯血より分離抽出した。低酸素性虚血性障害曝露の 24 時間後に 1×10<sup>5</sup> 個のヒト臍帯血由来 CD133<sup>+</sup>細胞を腹腔内に投与し</p>			

た。偽手術のみ行った対照群 (C 群) (n=7), 低酸素虚血処理後に生理食塩水を投与した低酸素虚血群 (HI 群) (n=7), 低酸素虚血処理後に CD133<sup>+</sup>細胞を投与した群 (CD133<sup>+</sup>群) (n=8) の 3 群に対し, 生後 28 日目から 56 日目まで 7 日毎に Rotarod 試験を用いて運動機能を評価した。また, 生後 56 日目に大脳を摘出し大脳切片の障害側と非障害側の面積比で障害の程度を検討した。CD133<sup>+</sup>細胞の大脳への移行は HLA-DR を用いた免疫組織化学染色で評価した。さらに血管新生の程度は isolectine B4 で, ミクログリア・マクロファージの評価は IBA1 を用いて病理組織学的に検討した。Rotarod 試験での持続時間は生後 42 日目で C 群; 265.6 ± 20.8 秒, HI 群; 164.9 ± 31.2 秒, CD133<sup>+</sup>群; 256.1 ± 22.6 秒であり, HI 群に比し CD133<sup>+</sup>群で有意に運動機能が改善した ( $P = 0.035$ )。この運動機能の改善は生後 42 日目から認められ, 56 日目まで持続した。大脳切片の面積比はそれぞれ 1.05 ± 0.02, 0.68 ± 0.10, 0.96 ± 0.04 であり, HI 群に比し CD133<sup>+</sup>群で有意に脳障害は改善した ( $P = 0.004$ )。HLA-DR を用いた免疫組織化学染色で腹腔内に投与した CD133<sup>+</sup>細胞が大脳組織内に移行していることが確認できた。Isolectine B4 による血管数の検討では, 3 群間に有意差はなく, CD133<sup>+</sup>群で血管新生の促進は認められなかった。病理組織学的には HI 群で特に大脳皮質, 海馬が障害を受けていたが, CD133<sup>+</sup>細胞の投与によりそれらの障害は軽減していた。さらに HI 群では大脳に巨大な嚢胞性病変を認め, 同部位にマクロファージの集積を認めたが, CD133<sup>+</sup>群では嚢胞性病変は縮小し, マクロファージの集積は少数であった。HI 群では有意な運動機能の低下, 大脳の器質的な障害を認めたが, いずれも CD133<sup>+</sup>細胞投与により改善した。血管内皮前駆細胞を使用していることから, この脳障害軽減の機序は血管新生に起因するものと考えて血管新生について評価したが, CD133<sup>+</sup>群で血管新生の促進は認められなかった。病理組織学的評価からは, CD133<sup>+</sup>細胞投与により障害部位が再生されたというよりは, 脳障害の程度が軽減されている所見であった。すなわち, CD133<sup>+</sup>細胞による抗炎症作用や神経保護作用により低酸素性虚血による脳障害から大脳が保護され, その結果として脳障害が軽減されているものと考えられた。

以上の結果から, 本論文は, CD133<sup>+</sup>細胞の投与は新生児低酸素性虚血性脳症の治療法となりうる可能性を明らかにした。すなわち, 周産期医学, 特に新生児医療の発展に資するところ極めて大きい。

よって審査委員会委員全員は, 本論文が申請者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。