

論文内容要旨

Simulated microgravity-cultured mesenchymal stem cells improve recovery following spinal cord ischemia in rats

(脊髄虚血-再灌流障害が引き起こす運動機能低下に対する微小重力培養間葉系幹細胞の効果)

Stem Cell Research, 41 (2019): 101601, 2019.

指導教員：弓削 類 教授

(医系科学研究科 生体環境適応科学)

黒瀬 智之

【目的】

虚血-再灌流による脊髄損傷後の運動機能低下は、間葉系幹細胞移植により改善が見込まれている。微小重力環境で培養した間葉系幹細胞は、抗炎症作用や抗アポトーシス作用が高まることが報告されている。ラットの脊髄虚血-再灌流モデルに対して、微小重力で培養した間葉系幹細胞を移植し、運動機能改善のメカニズムを調べる。

【方法】

雄性 SD ラット(450-510 g)をイソフルランで麻酔し、露出させた左大腿動脈からバルーンカテーテルを挿入した。鎖骨下動脈付近まで挿入後、バルーンを膨らませ脊髄を11分間虚血した。再灌流後、PBS (PBS 群)か骨髄由来の間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cells:MSC) を血管内に注入した。移植に使用した細胞は、通常重力下で培養した細胞 (MSC-1G 群) か、微小重力環境下(10⁻³ G)で培養した細胞 (MSC-MG 群) のいずれかを使用した。後肢の運動機能を観察し、Basso-Beattie-Bresnahan scale (BBB スケール)か傾斜板試験で評価した。虚血-再灌流術から1, 3日後に脊髄を採取し、HE 染色や免疫組織科学的染色による組織学的解析、ウェスタンブロットによる生化学的解析を行った。

【結果】

虚血-再灌流後、後肢の運動機能が著しく低下した (Fig. 1)。両後肢は弛緩性の麻痺を呈し、運動はみられなくなったが、MSC-1G 群や MSC-MG 群では徐々に後肢の関節運動がみられた。

虚血-再灌流1日後では、前角に小さい空洞化領域や浸潤細胞がわずかにみられた (Fig. 2)。3日後には空洞化領域は拡大し、浸潤細胞は増加した。脊髄の損傷は限局的で、腰髄から仙髄で Tuj1 陰性部位が観察された (Fig. 3)。PBS 群に比べて、MSC-1G 群や MSC-MG 群の損傷領域は小さかった。

灰白質と白質の境界部付近でアストロサイトが多く観察された (Fig. 4)。MSC-1G 群や MSC-MG 群のアストロサイトに比べ、PBS 群のアストロサイトの突起は長かった。BDNF 陽性のアストロサイトが MSC-MG 群で多く観察され、ウェスタンブロットによる解析では、MSC-1G 群や MSC-MG 群で proBDNF や mBDNF が増加していた (Fig. 5)。Caspase3 陽性細胞は、PBS 群に比べて MSC-1G 群や MSC-MG 群で少なかった (Fig. 6)。

【結論】

MSC を移植した群では後肢運動機能の改善がみられ、MSC-MG 群でより改善がみられた。MSC 移植群では PBS 群よりも Tuj1 陽性部位が保たれていたことや、Caspase3 陽性細胞数が減少していたことは、MSC のアポトーシス抑制効果により脊髄の破壊が抑えられ、後肢運動機能の改善に貢献したと考える。特に MSC-MG 群では BDNF が高発現しており、脊髄前角のアストロサイトが放出する BDNF が抗アポトーシス効果をもたらしたと考える。

【略語】

BDNF: brain-derived neurotrophic factor

PBS: phosphate-buffered saline

MSC: mesenchymal stem cell

MG: microgravity

BBB: Basso-Beattie-Bresnahan

GFAP: glial fibrillary acidic protein

CNS: central nervous system

NT3: neurotrophin-3

BM: bone marrow

SCI: spinal cord injur

