

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 1639 号

The synergic effect of co-administration of adipose-derived stem cells and control-released basic fibroblast growth factor for stabilization and maturation of angiogenesis in a murine ischemic hind limb model

(マウス下肢虚血モデルにおける脂肪組織由来幹細胞・徐放化線維芽細胞増殖因子混合投与による血管再生時の血管構造安定化および成熟化に対する相乗効果)

堀越 久子 (ほりこし ひさこ)

博士 (医学)

論文内容の要旨

これまで、脂肪組織幹細胞(Adipose-derived Stem Cells :ASCs)において、血管新生効果があることが報告されており、血管内皮細胞への直接分化および、ASCs が産生する増殖因子によるパラクライン効果が複合的に影響していると考えられている。一方、ゼラチンハイドロゲルをキャリアとした徐放化塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)の血管新生作用もこれまでの臨床研究において明らかとなっている。しかし、新生血管の構造や機能性にはいまだ発展の余地があり、我々は両者を混合投与することで血管のさらなる成熟化をもたらすのではないかと考えた。

まず C57BL/6J マウス鼠径部脂肪塊より ASCs を分離精製後、徐放化 bFGF 添加群、非添加群に分けて培養し得られた培養上清中に含まれる種々の増殖因子(HGF, VEGF, TGF- β 1)を ELISA 法で計測した。次に C57BL/6J(雄性・12~15 週)マウスに対し、独自の手法でマウス下肢虚血モデルを作成し、以下に示す如く虚血下肢大腿に筋肉内投与した。ゼラチンハイドロゲル群 (実験群 1)、ASCs 1×10^6 移植群 (実験群 2)、徐放化 bFGF 30 μ g 移植群 (実験群 3)、徐放化 bFGF 30 μ g+ ASCs 1×10^4 混合移植群 (実験群 4)、徐放化 bFGF 30 μ g+ ASCs 1×10^6 混合移植群 (実験群 5)。評価方法は継時的肉眼観察及びレーザードップラーを用いた血流定量評価を移植 0,4,7 日後に実施した。また、移植 7 日後に虚血肢を採取し、組織学的及び免疫学的観察 (α SMA,CD31,CD146,TGF- β 1)を実施した。

その結果、ELISA においては、ASCs より放出される増殖因子は徐放化 bFGF の添加により増強された。レーザードップラーによる血流定量解析の結果、移植 7 日後において実験群 4 および 5 が他群と比較し有意な血流改善率を認めた。組織学的評価においても実験群 4,5 は他群と比較して内腔が大きく血管壁も厚く、かつ α SMA,CD146,TGF- β 1 陽性が示す如く新生血管の構造的安定化と成熟化が認められた。

以上より、マウス下肢虚血モデルにおいて ASCs と徐放化 bFGF の混合移植は単体投与群に比べより効果的な血管再生効果を提供し、かつ新生血管の構造的安定化と成熟化に寄与することが示唆された。