

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)

#### 論文審査結果の要旨

本論文は、これまで血管新生効果があるとされてきた脂肪組織幹細胞(Adipose-derived Stem Cells :ASCs)およびゼラチンハイドロゲル徐放化塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)を虚血部位に混合投与することでより強力な血管新生効果が得られるとの仮説に基づいて行われた基礎研究および前臨床研究である。

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- $\beta$ 1)を ELISA 法で計測した。次に C57BL/6J(雄性・12~15 週)マウスを用いて下肢虚血モデルを作成し、ゼラチンハイドロゲル群 (実験群 1)、ASCs  $1 \times 10^6$  移植群 (実験群 2)、徐放化 bFGF  $30 \mu\text{g}$  移植群 (実験群 3)、徐放化 bFGF+ ASCs  $1 \times 10^4$  混合移植群 (実験群 4)、徐放化 bFGF+ ASCs  $1 \times 10^6$  混合移植群 (実験群 5) に分けて虚血下肢大腿に局所投与した。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 ( $\alpha$ SMA, CD31, CD146, TGF- $\beta$ 1) を実施した。

ELISA による結果では、ASCs より放出される増殖因子は徐放化 bFGF の添加により有意に増強した。レーザードップラーによる血流定量解析の結果、移植 7 日後において混合移植群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混合移植群は他群と比較して血管内腔が大きく血管壁も厚く、かつ  $\alpha$ SMA, CD146, TGF- $\beta$ 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。本論文の結果は現在発生率が急増している重症下肢虚血に対する血管再生治療、虚血性慢性創傷に対する皮膚再生治療あるいは再生組織への血液供給を目的とした血管再生技術への応用など、臨床的に意義ある論文である。

よって、本論文は博士 (医学) の学位を授与するに値するものと判定した。