

# 骨髄幹細胞移植による 脳血管性認知症の治療

佐々木 祐典 [札幌医科大学医学部附属フロンティア  
医学研究所神経再生医療学部門／講師]  
本 望 修 [札幌医科大学医学部附属フロンティア  
医学研究所神経再生医療学部門／教授]  
岡 真 一 [札幌医科大学医学部附属フロンティア医  
学研究所神経再生医療学部門／特任講師]  
進 藤 聡 [ニプロ株式会社札幌支店／課長]

## 背景・目的

高齢化社会の大きな問題の一つは認知症であり、なかでも脳血管性認知症は脳梗塞、脳出血などの脳血管の異常によって生じ、根本的な治療法がない現在、新しい治療法の開発は喫緊の課題である。

申請者らは、これまでの研究で、脳梗塞に対する骨髄幹細胞(MSC)の静脈投与が治療効果を有することを報告しており、従来の化学合成による薬剤とは異なる機序で機能の改善に貢献すると考察している。

本研究では、脳血管性認知症モデル動物として用いて、同ラットに対する骨髄幹細胞(MSC)の静脈内投与を行い、治療効果の検討を行った。

## 内容・方法

本申請では、脳血管性認知症モデル動物に対して、骨髄幹細胞(MSC)移植を行い、脳血管性認知症に対する治療法の検討を行った。この脳血管性認知症モデル動物を用いた前臨床試験を通して、骨髄幹細胞(MSC)移植による認知症の治療効果、作用メカニズムの解析、最適な併用療法の選別化および副作用などの検証を行うことで、認知症に対する新規治療薬としての骨髄幹細胞(MSC)移植の有効性を明らかにすることを目標とした。

具体的には、成熟SDラットより骨髄幹細胞(MSC)を採集し、培養した骨髄幹細胞(MSC)を経静脈的に脳血管性認知症モデル動物に移植を行った。骨髄幹細胞(MSC)の移植は、脳血管性認知症モデル動物に対して複数のタイムポイントで行った。治療効果は、生理学的・行動学的・組織学的検査およびMRIで検証し、最適な移植時期を決定することも目的とした。

## 結果・成果

### 1. 骨髄幹細胞(MSC)作成

成熟SDラットに塩酸ケタミン90mg/kg、塩酸キシラジン10mg/kgを腹腔内投与し、麻酔を行った。ピンセットなどで皮膚をつまみ、深麻酔を確認後、大腿骨を採取、骨髄から幹細胞を分離して骨髄幹細胞(MSC)培養を行った。大腿骨を採集したラットは、致死量のペントバルビタール100mg/kgを腹腔内へ投与し安楽死させた。1匹のラットから得られる骨髄幹細胞(MSC)の数は継代

の回数によって調整可能であり、約 $10^{7-8}$ 個採取できた。

### 2. 骨髄幹細胞(MSC)移植

脳血管性認知症モデル動物を、骨髄幹細胞(MSC)移植群とコントロール群にランダム化して割り付け、骨髄幹細胞(MSC)移植群には、ラットより採集・培養した骨髄幹細胞(MSC)を経静脈的に移植し、コントロール群には、DMEM培養液を静注した。経静脈的移植は、脳血管性認知症モデル動物に対して、塩酸ケタミン90mg/kg、塩酸キシラジン10mg/kgを腹腔内投与し、麻酔を行った後に、ピンセットなどで皮膚をつまみ、深麻酔を確認後、大腿部を切開し、大腿静脈を露出し、静脈に小切開を加え、骨髄幹細胞(MSC)を( $1.0 \times 10^6$  cells /1ml DMEM)投与した。

### 3. 移植後の評価

移植後、毎週、生理学・行動学的検査を行い、約2か月後に組織を採集した。行動学的検査では、運動機能評価はトレッドミル検査で行った。トレッドミル検査は、装置にラットを置き、最長20分間、ベルトの動く装置上をベルトの動きと反対側に走らせて最大速度を測定した。認知機能検査として、Morris water maze 試験、Novel object recognition 試験、Novel object location 試験などを行った。

以上の生理・組織・行動学的検査を総合的に解析した結果、骨髄幹細胞(MSC)移植群がコントロール群と比較し、運動機能および認知機能が保たれている傾向が認められた。特に、動物行動学的実験の汎用行動学解析用ソフト(ANY-maze)を用いたゴールまでの到達時間、遊泳速度、遊泳距離をはじめとする多種のパラメーターでの解析でも、移植群での治療効果が認められた。

### 4. 成果

以上の結果より、脳血管性認知症モデル動物において、骨髄幹細胞(MSC)移植群はコントロール群と比較し、認知機能の悪化予防、または改善する傾向があることが示唆されており、さらなる検証が必要であると考えられた。

## 今後の展望

認知症は、本邦では200万人程度の患者が罹患していると推定されているが、有効な治療法は存在しない。

本研究によって、骨髄幹細胞(MSC)を用いた細胞移植療法は、脳血管認知症に対しての治療効果が期待できることが示唆されたため、今後は本研究を継続して推進する予定である。

本細胞は既に治験薬GMP下での製造を行い、脳梗塞および脊髄損傷に対する医師主導治験を行っている。もし、脳血管性認知症のモデル動物で治療効果が確認されたら、直ちに臨床治験へ移行することが可能であり、有効な治療法の存在しない脳血管性認知症に対する新しい治療選択として開発の意義があると考えている。