



Title	Notch Signaling-modified Mesenchymal Stem Cells Improve Tissue Perfusion by Induction of Arteriogenesis in a Rat Hindlimb Ischemia Model
Author(s)	前田, 修作
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/82080
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	前田 修作
論文題名 Title	Notch Signaling-modified Mesenchymal Stem Cells Improve Tissue Perfusion by Induction of Arteriogenesis in a Rat Hindlimb Ischemia Model (下肢虚血ラットモデルに対するNotchシグナル遺伝子改変間葉系幹細胞移植はArteriogenesisを誘導し組織血流を改善する)
論文内容の要旨	
〔日 的〕 Angiogenesisに対し、Arteriogenesisはより太い血管径の側副血行路の誘導を指し、血流増加効果が大きいことから、重症下肢虚血において、より強力な治療効果が得られることが期待される。本研究では、Notchシグナル遺伝子改変間葉系幹細胞(SB623)は、下肢虚血ラットモデルにおいてArteriogenesisを誘導し、組織血流を改善することを仮説とした。 〔方法ならびに結果〕 実験① 血管内皮細胞(HUVEC)をSB623細胞とTrans-well systemを用いて共培養し、その遺伝子発現をRNAシーケンスを用いて網羅的に解析した。その結果、SB623細胞は血管内皮細胞において、angiogenesisに関連する経路だけではなく、Notchシグナル経路 ($p<0.01$) やfluid shear stress ($p<0.01$) に関する経路などのArteriogenesisを誘導する可能性のある複数の経路の発現を増強した。また、その細胞上清のタンパク解析では、SB623がMCP-1 ($p<0.05$)、HGF ($p<0.05$) などArteriogenesisに関与するサイトカインが多く分泌することが示唆された。 実験② Sprague-Dawleyラットの左後肢大腿動脈を結紮し下肢虚血モデルを作成した。虚血誘導後1週目に1×10^5個のSB623細胞(SB群, $n=8$)およびPBS(コントロール群, $n=7$)を左内転筋肉内の5箇所注射し、その後4週間日までレーザードブラー血流計を用いて虚血下肢の血流量(虚血肢/ 健側肢$\times 100\%$)の評価を行った。その結果、SB群の虚血肢の組織血流の有意な改善を認めた(投与後4週後の血流量, SB群: $69 \pm 13\%$ vs. コントロール群: $56 \pm 13\%$, $p=0.03$)。また、SB群の虚血肢の筋萎縮 ($p<0.01$) と繊維化 ($p<0.01$) の有意な抑制を認めた。さらに、治療4週間後の組織学的検討ではα SMA/vWF陽性かつ径が$15 \mu\text{m}$以上の血管数(arterioles, $12 \pm 3 /\text{mm}^2$ vs. $5 \pm 1 /\text{mm}^2$, $p<0.01$)は有意な増加を認めた。さらに虚血肢における遺伝子発現をRT-PCR法で評価したところ、Arteriogenesisのマーカー遺伝子のEphB4 の発現の増強($p=0.04$)を認めた。 〔総 括〕 Notchシグナル遺伝子改変間葉系幹細胞は、下肢虚血ラットモデルにおいてArteriogenesisを誘導し、組織血流を改善する。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 前田 修作			
論文審査担当者	(職)	氏	名
	主 査	大阪大学教授	澤 芳 樹
	副 査	大阪大学教授	久保 伯 貴
	副 査	大阪大学教授	奥 山 宏 臣
論文審査の結果の要旨 慢性下肢虚血疾患に対する細胞移植治療において、高い治療効果をもつ細胞の開発は大きな課題だが、その治療機序に関しては、血管新生が最も重要であると考えられる。本研究では、太い血管径の側副血行路を誘導し、より大きな血流増加効果が期待できるArteriogenesisという血管新生の様式に着目し、Notchシグナル遺伝子改変間葉系幹細胞(SB623)が、下肢虚血ラットモデルにおいてArteriogenesisを誘導し、組織血流を改善するかに関して評価を行った。SB623細胞の血管内皮細胞に対する作用に関する評価では、Notchシグナル経路やfluid shear stressに関する経路など、Arteriogenesisを誘導する可能性のある複数の経路の発現の増強を認めた。下肢虚血ラットモデルに対する細胞移植実験では、SB623細胞移植群において虚血肢の組織血流の有意な改善を認め、組織学的には太い径の成熟した血管の新生を認めた。さらに虚血肢における遺伝子発現の評価では、SB623細胞移植群においてArteriogenesisのマーカー遺伝子の発現の増強を認めた。 以上の結果から、申請者は学位の授与に値すると思われる。			