

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

勝岡 由一

専攻分野：腎泌尿器外科学

コース：

指導教授：力石 辰也

主論文の題目：

Intra-arterial Catheter System to Repeatedly Deliver Mesenchymal Stem Cells in a Rat Renal Failure Model
(腎不全ラットモデルにおける、間葉系幹細胞の経動脈的複数回投与を目的としたカテーテル投与システム)

共著者：

Hiroki Ohta, Eisuke Fujimoto, Luna Izuhara, Shinya Yokote, Sho Kurihara, Shuichiro Yamanaka, Susumu Tajiri, Tatsuya Chikaraish, Hirotaka J Okano, Takashi Yokoo

緒言

間葉系幹細胞(Mesenchymal stem cell, MSC)を用いた細胞移植治療が腎不全分野において用いられる事はほとんどない。静脈より投与された細胞は、損傷組織へ遊走する前に、肺や脾臓などの毛細血管に捕らわれてしまうため、幹細胞投与後の腎への集積率が低く、実用的ではないからである。。

複数回動脈内細胞投与は、この結果を改善する手法の一つかもしれない。経動脈的に細胞を投与すれば、直接的に腎臓へ細胞を到達させることができる。また、細胞を複数に分けて投与すれば、より治療効果が上がると期待される。しかし、既存の方法では、ラットモデルにおける複

数回動脈内注入が難しく、検証実験が困難だった。

本研究において、我々は複数回幹細胞注入のための動脈内投与系を開発した。

方法・対象

ラットの左大腿動脈へカテーテルを挿入し、透視ガイド下にカテーテルを腎動脈分岐部直上まで誘導した。ラットはアデニン誘発腎不全ラットを用いた。また、カテーテルは市販のポリウレタン製カテーテルを用いた。

第1に、我々は細胞移植効率の評価を目的とした実験を行なった。ルシフェラーゼトランスジェニックラットから取り出したMSCを使用し、我々の開発した動脈内カテーテルシステムから投与した群（C-グループ、 $n = 3$ ）と尾静脈から投与した群（V-グループ、 $n = 3$ ）とを比較した。

ラットはMSCを投与したのち、翌日に安楽死させた。投与されたMSCの生体内分布を評価するため、生物発光画像処理システム（IVIS）を使用して、投与当日および翌日の生体内細胞追跡実験を行なった。

第2に、我々はカテーテルシステムの安全性評価実験を行なった。カテーテルを挿入した6匹のラットに7日おきにMSCを投与して、30日間観察を続けた。

さらに、カテーテル挿入後の合併症が、カテーテルそのものによる障害なのか、動脈内細胞塞栓によって引き起こされたものなのかを比較するために、MSC投与群（MSCグループ、 $n = 3$ ）とMSC非投与群（no MSCグループ、 $n = 3$ ）との比較実験も行なった。各群において、カテーテル挿入後1週間の腎組織を観察し、組織学的腎障害の有無を検討した。

本研究は東京慈恵会医科大学実験動物委員会の承認を受けて行なった（承認番号：H23-004）。実験動物は、そのガイドラインに従って取り扱った。

結果

動脈内カテーテルシステムから投与した群では腎臓内に投与細胞が検出されたのに対し、尾静脈から投与した群では、投与された細胞は肺内で検出され腎では検出できなかった。この結果は、投与当日と翌日の両日で同様に観察された。

安全性検証実験では、6匹のネズミのうちの5匹において、少なくとも9日間は動脈内カテーテルシステムが有効に機能していた。残り1匹はカテーテルシステムの破損のため、経時的な観察が出来なかった。いずれの個体も合併症が生じたのは10日目以降だった。カテーテル内血栓に起因すると思われる合併症を認め、カテーテル留置期間が長くなるほど、動脈瘤などのより深刻な合併症を引き起こしていた。

MSC投与群とMSC非投与群での比較では、両群とも部分的な腎組織障害を認めた。腎組織障害は限局的であり、どちらの群のラットも1週間の観察期間で死亡例はなかった。

考察

静脈内細胞注入療法は予想外の合併症を引き起こしうる。静脈内細胞注入によって肺梗塞を起こした症例の報告もある。

我々の開発した動脈内カテーテルシステムを用いてMSCを投与した群は、静脈内細胞注入した群と比較して、より効率的に腎臓へMSCが移植されていた。

今回我々はアデニン誘発性腎不全ラットモデルを用いたが、6分の5腎摘除モデルや阻血再灌流モデル、片側尿管閉塞モデルといった腎不全モデルと、本カテーテルシステムとの併用も容易であり、様々な腎不全モデルでの実験が可能と推定される。

現行のシステムでは1週間程度の使用に限定されるが、より生体適合性の高いカテーテル素材の使用や感染症予防・抗凝固療法の併用などの

工夫により、より安全なシステムへと改良していきたい。

結論

我々の開発した動脈内カテーテルシステムは細胞を効果的に腎臓へ届ける事が可能で、かつ複数回注入が可能なシステムである。本システムは腎不全における細胞注入療法の研究に寄与するものと思われる。