

【27】

氏 名	いまにし まさ や 今 西 理 也
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	乙第784号
学位授与の日付	平成31年2月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項
学位論文題目	Adipose-derived mesenchymal stem cells improve both spontaneous pain and allodynia in a rat neuropathic pain model （脂肪由来間葉系幹細胞移植は神経障害性疼痛モデルラットの自発痛とアロディニアの両方を改善する）
論文審査委員	（主査）教授 山 口 重 樹 （副査）教授 種 市 洋 教授 藤 田 朋 恵

論 文 内 容 の 要 旨

【背 景】

神経因性疼痛患者の15～50%のみがアロディニアを呈するが、ほぼ100%が自発痛に苦しむ。神経因性疼痛に対する現在の治療は、十分機能しているとは言い難い。近年、神経因性疼痛の治療としての間葉系幹細胞（MSC）移植の効果が検証されてきている。動物実験において、MSCの移植は、抗炎症作用および免疫調節作用により、神経因性疼痛におけるアロディニアを改善することが示されている。

MSCには、骨髄由来MSC、脂肪由来MSC（ADMSC）、および臍帯由来MSCなどが存在する。ADMSCは他のMSCと比較して、低侵襲に、かつ大量に得られるため、臨床で使用する際有用である。

過去の研究では、ラットの神経因性疼痛に対するADMSC移植の効果を検討しているが、これらの研究ではアロディニアのみを評価し、自発痛の評価はしていない。神経因性疼痛に罹患しているほとんどの患者が自発痛を有することを考慮すると、動物実験における神経因性疼痛の治療効果の判定には、自発痛を評価する方が、より臨床に直結した実験となる可能性がある。

【目 的】

神経因性疼痛モデルラットにおけるADMSC移植の有効性を検討した研究は複数存在するが、自発痛の評価は行っていなかった。この研究の目的は、神経因性疼痛モデルラットにおいてADMSC移植がアロディニアだけではなく、自発痛も改善するかどうかを検証することである。

【対象と方法】

研究プロトコールは、獨協医科大学の動物研究委員会の承認を受け、指針に従って行った。実験対象として、F344雄ラット（体重180～220g、9週齢）を使用した。まず脂肪組織のブロックを、慢性狭窄傷害（chronic constriction injury：CCI）手術を受ける予定のないF344ラットから取り出した。採取した脂肪組織からADMSCを単離し、2～4回継代して移植に備えた。CCI手術は、BennettおよびXieにより記載された方法に従って、20匹のラットに対して施行した。ラットは無作為に2群：ADMSC移植群および対照群（各群10匹）に割り当てた。CCI手術の1週間後、ADMSC移植群ラットにADMSCを障害部位の神経上膜に移植した。対照群のラットには、移植群と同様の部位にリン酸緩衝生理食塩水のみを注射した。ADMSC移植の効果は、自発痛関連行動回数の計測による自発痛測定及びvon-Frey filament testによるアロディニア測定によって評価した。疼痛の評価は、ADMSC移植の直前及び移植後6週間まで行った。

【結 果】

自発痛関連行動回数及びvon-Frey filament testによる閾値それぞれに対して、分割プロットデザインによる分散分析、及びその後の検定として対応のないt検定を施行した。その結果、ADMSC移植により、自発痛は移植21日目以降、アロディニアは移植7日目以降、有意に改善を認めた。またこれらの効果は、自発痛においては移植35日目、アロディニアにおいては移植42日目まで観察された。

【考 察】

神経因性疼痛モデルラットにおけるADMSC移植の有効性を検討した研究は複数存在するが、これらの研究は、アロディニアは評価しているが、自発痛の評価はしていない。Muraiらはラットにおいて、鎮痛薬の効果が、アロディニアと自発痛では異なることを示した。この結果を踏まえると、神経因性疼痛に対するADMSC移植の有効性を検証するには、アロディニアと自発痛の両方の評価が必要である。

我々の実験では、移植後7日目以降にアロディニアの改善を認めた。この結果は、他家の研究の結果と類似している。しかし、自発痛は、移植後21日目以降に改善を認め、アロディニアの改善時期との間にずれを生じた。この結果は、アロディニア発症と自発痛発症では、異なるメカニズムが存在することに起因すると考える。

ADMSC移植による神経因性疼痛改善のメカニズムは、完全には解明されていない。現時点では、ADMSCによる炎症および免疫プロセスの調節、内因性オピオイド系の活性化等の可能性が示唆されている。臨床において、神経因性疼痛に対しオピオイドが使用されているが、高用量では、呼吸抑制を含む有害事象のリスクを伴う。内因性オピオイド系を活性化するADMSC移植は、オピオイド投与よりも、より安全な治療アプローチになり得る。

この研究では、ADMSCの静脈内投与における鎮痛効果を評価せず、またADMSC移植による組織学的、生化学的変化を検証しなかった。しかしながら、我々の研究はCCIモデルラットにおいて、ADMSC移植が、アロディニアだけではなく自発痛も改善することを実証した。この新しい知見により、臨床においてADMSC移植が神経因性疼痛に対する有効な治療となり得ることが示唆された。

【結 論】

動物実験において、ADMSC移植が、アロディニアだけではなく自発痛も改善することを実証した。ADMSC移植は、臨床現場での神経因性疼痛に対する有効な治療となり得る。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

【論文概要】

現在の神経障害性疼痛に対する治療は、薬物療法を軸として集学的治療が行われているが、未だ治療に難渋する疾患である。近年、動物実験において、間葉系幹細胞移植により神経障害性疼痛が改善することが報告されている。様々な種類の間葉系幹細胞が存在する中、脂肪由来間葉系幹細胞（Adipose-derived mesenchymal stem cells：ADMSCs）は他の間葉系幹細胞と比較して、低侵襲に、かつ大量に得られるため、臨床で使用する際有用である。過去の報告において、ラットの神経障害性疼痛に対するADMSCs移植の効果が検討されているが、アロディニアのみが評価され、自発痛は評価されていない。申請論文では、神経障害性疼痛モデルラットの神経結紮部にADMSCsを移植し、自発痛とアロディニアが改善するか検討している。結果、1) コントロール群と比較し、ADMSCs移植群では、自発痛、アロディニアともに有意に軽減したこと、2) 自発痛（移植後3週）とアロディニア（移植後1週）の軽減に時間的解離がみられたことを報告している。このことから、臨床においてADMSCs移植が神経障害性疼痛の治療として新たな選択肢となり得ると結論づけ、その詳細な機序を解明するためにさらなる継続研究の必要性を指摘している。

【研究方法の妥当性】

申請論文では、行動をもとにした疼痛測定を行っているが、測定誤差を小さくするために、飼育環境や測定時刻を一定にし、モデルラットからはADMSCsを作成するための脂肪塊を採取しないよう配慮されている。神経障害性疼痛モデルには、既知の、神経障害性疼痛に対する治療効果の評価に広く研究に使用されている、絞扼性神経損傷（CCI）モデルを採用している。統計解析については分割プロットデザインの分散分析および、その後の検定として対応のない t 検定を用いている。適切な対象群の設定と客観的な統計解析を行っており、本研究方法は妥当なものである。

【研究結果の新奇性・独創性】

ADMSCs移植による神経障害性疼痛モデルラットの自発痛の改善に関しての報告はない。申請論文では、自発痛はADMSCs移植後3週、アロディニアは移植後1週からコントロール群と比較し、有意な疼痛軽減効果を認め、改善時期が異なっていたことを初めて明らかにしている。この点において本研究は新奇性、独創性に優れた研究であると評価できる。

【結論の妥当性】

申請論文では、適切な実験群、対照群の設定の下、確立された実験手法と統計解析を用いて研究を行っている。そこから得られた結論は、論理的に矛盾するものではなく、妥当なものである。

【当該分野における位置付け】

申請論文では、ADMSCs移植により、神経障害性疼痛モデルラットの自発痛が移植後3週、ア

ロディニアは移植後1週から軽減することを初めて明らかにしている。これは、臨床において、ADMSCs移植が神経障害性疼痛の治療として新たな選択肢となり得ることを示している。また、自発痛とアロディニアの改善時期が異なっていたことは、それらの発症メカニズムが異なっている可能性を示唆しており、神経障害性疼痛の病態究明にも役立つ興味深い研究と評価できる。

【申請者の研究能力】

申請者は形成外科学、疼痛学の理論を学び実践した上で、研究計画を立案し適切に本研究を遂行することで、貴重な知見を得ており、その研究能力は高いと評価できる。

【学位授与の可否】

本論文は独創的で質の高い内容を有しており、当該分野における貢献度も高いと評価できる。よって、博士（医学）の学位授与に相応しいと判断した。

（主論文公表誌）

Dokkyo Journal of Medical Sciences

(45 : 119-125, 2018)