

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：32653

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17262

研究課題名（和文）間葉系幹細胞を用いた細胞シート療法による進行した慢性腎臓病の治療効果の検討

研究課題名（英文）Therapeutic efficacy of mesenchymal stem cell-based cell sheet therapy for advanced chronic kidney disease

研究代表者

宮部 陽永（Miyabe, Yoei）

東京女子医科大学・医学部・准講師

研究者番号：40815792

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,500,000 円

研究成果の概要（和文）：間葉系幹細胞（MSC）を用いた細胞シート療法による進行した慢性腎臓病（CKD）の治療効果を検討した。GFP遺伝子導入SDラットの骨髄由来間葉系幹細胞（rBMSC）にて細胞シートを作成した。7週齢のラットで虚血再灌流障害（IRI）を施行し、14日目にrBMSC細胞シートを4枚移植した治療群と、IRIのみの無治療群、IRIも未施行のsham群とで比較した。28日目の腎組織では治療群で尿細管壊死や線維化が抑制傾向だった。また、治療効果に寄与した遺伝子を同定するためのRNA-seqにていくつかの遺伝子で有意差を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CKDの患者は日本だけでも約1300万人と推定され、また CKDが進行し末期腎不全に至ると腎移植や透析療法が必要であり、生活の質や予後、医療経済的な面で世界的な課題である。MSC細胞シートによる進行したCKDにおける治療効果については未検討だったため、今回の研究にて、腎組織などの結果からは進行したCKDへの治療効果が期待されたことや、RNA-seqにて明らかになった遺伝子を抑制することで、CKDの予後を改善する新規治療法の開発に繋がる可能性があると考えている。

研究成果の概要（英文）：The efficacy of mesenchymal stem cell (MSC)-based cell sheet therapy in treating advanced chronic kidney disease (CKD) was investigated. rBMSC cell sheets were prepared from bone marrow-derived mesenchymal stem cells (rBMSC) from GFP transgenic SD rats. Seven-week-old rats underwent ischemia-reperfusion injury (IRI), and four rBMSC cell sheets were transplanted on day 14. The treatment group was compared with the no-treatment group that underwent only IRI and the sham group that also did not experience IRI. On day 28, renal tissue showed a trend toward suppressing tubular necrosis and fibrosis in the treatment group. In addition, RNA-seq to identify genes that contributed to the treatment effect showed significant differences in some genes.

研究分野：腎臓内科

キーワード：慢性腎臓病 細胞シート 骨髄由来間葉系幹細胞 虚血再灌流障害

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病 (Chronic kidney disease: CKD) の患者は日本だけでも推定 1300 万人と非常に多く、また末期腎不全での腎移植や透析療法は生活の質や予後、医療経済的な面で世界的な課題である。そのため CKD の根治的治療の開発が期待されている。我々は細胞工学技術を用いて間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cell: MSC) から細胞シートを作成し、CKD モデルである一側尿管結紮水腎症や虚血再灌流障害 (Ischemic reperfusion injury: IRI) のラット腎被膜下へ細胞シートを予防的に移植することで発症直後の CKD を抑制できることを証明した。しかし、進展した CKD における治療効果については未検討であった。

2. 研究の目的

この研究では、進展した CKD を抑制して根本的治療に繋げることで、CKD の予後を改善する新規治療法を開発を目指して、MSC を用いた細胞シート療法による進行した CKD の治療効果を検討した。

3. 研究の方法

ラット腎 IRI 後に線維化を認める腎臓に対して MSC 細胞シートを移植して、治療効果を確認した。細胞シートは、GFP 遺伝子導入 SD ラットの骨髄由来間葉系幹細胞 (rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells: rBMSC) の初代培養と継代を行って作成した。rBMSC による治療効果を、HUVEC 創傷治癒アッセイを用いて rBMSC 培養上清を添加したモデルで評価した。

IRI モデルの確立を図るため、7 週齢のラットで 40 分の虚血時間にして、また移植する細胞シートを 2 枚や 4 枚と変更して評価を行った。

細胞シートを移植した治療群を 4 匹、IRI のみで無治療群を 4 匹、IRI も未施行の sham 群 2 匹と比較した。腎組織における障害や線維化改善効果について PAS 染色や Masson Trichrome 染色、SMA 染色などを施行した。

治療効果に寄与した遺伝子を同定するための RNA-seq を施行した。

4. 研究成果

rBMSC による治療効果を、HUVEC 創傷治癒アッセイを用いて rBMSC 培養上清を添加したモデルで評価したところ、創傷治癒効果が高いことを確認した。

7 週齢のラットで 40 分の虚血時間にして、平均 Cr 1.8 mg/dL と上昇を認め、IRI による腎機能悪化を確認した。さらに IRI 後 14 日目に rBMSC 細胞シートを 2 枚移植して、腎組織を確認したが、細胞シートによる治療効果で有意差を認めなかった。細胞シート 4 枚にて、治療群、無治療群、sham 群と比較したところ (Fig.1,2)、線維化や治療効果のばらつきが大きかったが、治療群で尿細管壊死や線維化が抑制されている傾向を認めた。また腎摘出時を含めた腎機能の評価したと有意差は認めなかった。RNA-seq にて Adra2c や Lgr6、Fabp3、Snca で有意差を認めた (Fig.3)。

今後は観察期間を延長して腎組織などにて CKD 治療効果をより明確に確認することや、今回 RNA-seq にて明らかになった遺伝子を抑制することで CKD 治療への寄与を確認することを検討している。

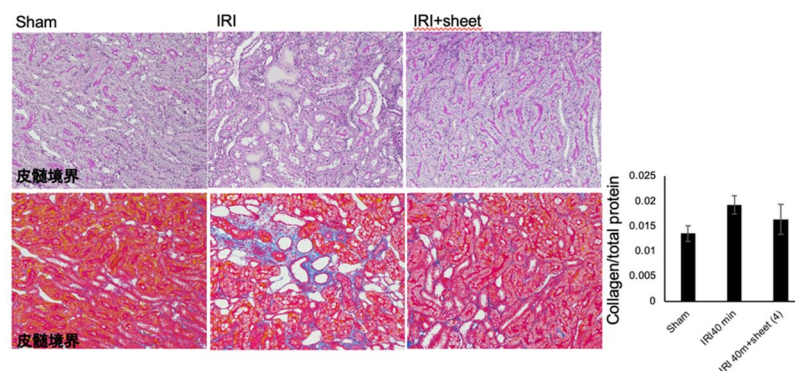


Fig 1. PAS 染色と Masson Trichrome 染色

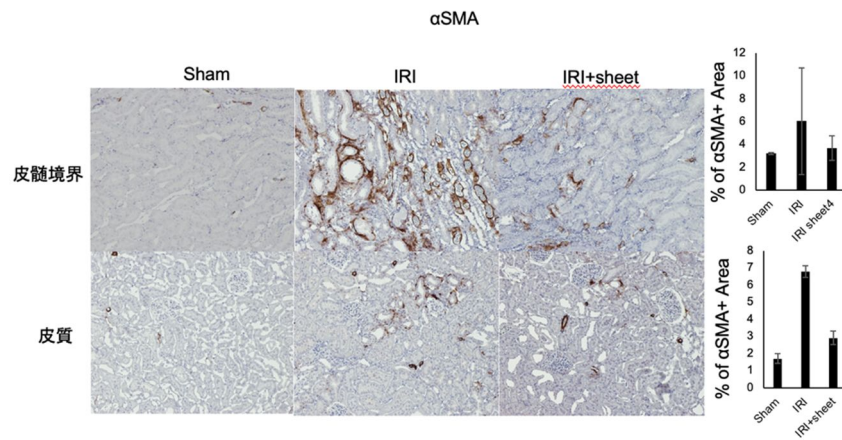


Fig 2. SMA 染色

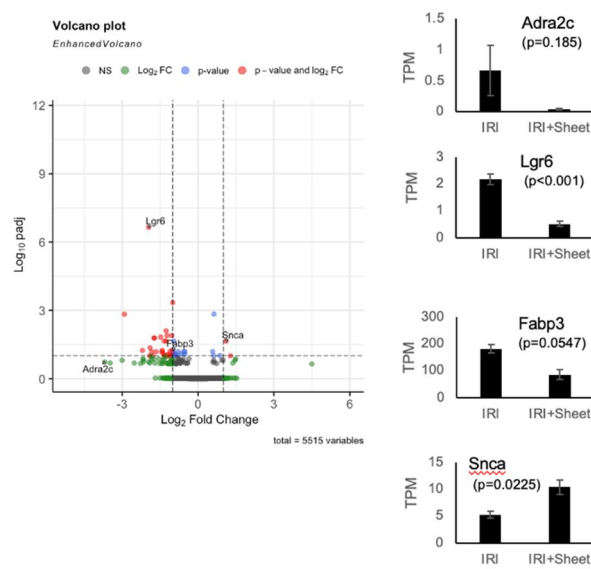


Fig 3. RNA-seq

5 . 主な発表論文等

〔 雑誌論文 〕 計0件

〔 学会発表 〕 計0件

〔 図書 〕 計0件

〔 産業財産権 〕

〔 その他 〕

細胞シート工学による再生医療
<https://www.twmu.ac.jp/ABMES/research-content/cell-sheet-engineering/>
2019 原著論文 / Original Articles
<https://www.twmu.ac.jp/ABMES/achievements-2/2019-2/>

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔 国際研究集会 〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------