

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 6 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21592071

研究課題名（和文）腎部分切除術後の腎機能回復に及ぼす自己脂肪組織由来幹細胞の有用性に関する研究

研究課題名（英文）The research on the usefulness of stem cells derived adipose tissue for reconering renal funcion after partail nephrectomy

研究代表者

佐々 直人 (Naoto Sassa)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50437026

研究成果の概要（和文）：

腎障害ラットモデル低血清培養法を用いた脂肪組織由来幹細胞治療群とコントロール群を比較検討した。細胞治療群はコントロール群と比較して投与後数日で血中 Crn, BUN の改善を認めた。同様に尿細管周囲毛細血管血流の改善も認めた。In vitro での低血清と高血清で培養したもので比較すると低血清培養での細胞から分泌された虚血状態ではさらにその差が大きくなった。細胞から分泌されると考えられるサイトカインがレシピエントの腎臓尿細管毛細血管の血流増加を引き起こし陣保護作用を示したものと考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Background.

Acute renal ischemic injury (AKI) represents a major clinical problem with renal arterial clamp at parial nephrectomy. The use of therapy using adipose tissue-derived stem cells(ASCs) has been suggested as a potential modality to attenuate the ischemic renal damage.

Methods. We investigated the possible renoprotection of pretreatment of ASCs before and after in a rat ischemia–reperfusion (I–R) model of AKI. Twenty-four hours postischemia, blood flow in peritubular capillaries (PTC) was measured using intravital videomicroscopy.

Results.

We demonstrated that ADRC therapy significantly reduced serum creatinine and BUN. Histological analysis further validated a significantly attenuated tubular damage. Intravital videomicroscopy and measurement of red blood cell velocity in peritubular capillaries showed ASCs-injected kidneys displayed significant hemodynamic improvement.

Conclusions.

The subscapular administration of ASCs to the kidney attenuates I/R renal injury though antiinflammation, antiapotoyic effect and peritubular capillary microcirculation. The present study suggests that ASCs would be a useful tool in preventing ishemic kidney damage in the clinical setting.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	100,000	30,000	130,000
年度			
年度			
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：再生治療

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 泌尿器科

キーワード：脂肪由来幹細胞、腎部分切除術、尿管周囲毛細血管血流、時空間画像処理

1. 研究開始当初の背景

腎部分切除の腎血管遮断虚血時間が30分を超えると不可逆性腎障害が生じることが知られている。いかに、虚血状態より腎臓を保護するかが、実臨床における命題であり、その対策として、虚血時間をより短く、なるべく腎臓を冷却することで腎臓機能の低下をこれまで防ぐ努力を試みてきた。それ以外の選択肢として、虚血保護作用のある薬剤、物質ひいては臓器再生がテーマとして考えられる。当科では、尿失禁治療に脂肪組織由来幹細胞を用いており、実際、有効である。この効果は、尿道のバルキングや再生を促すサイトカインによる効果と考えている。これまでに、虚血臓器保護に臨床にしやすい脂肪組織由来幹細胞を用いて行う報告と詳細なメカニズムの報告はなかった。脂肪由来幹細胞を用いることでこの可能性を確認する必要性があった。

2. 研究の目的

腎細胞癌の部分切除時に行う際、腎血流を一時的に遮断する。この際に発生する腎血管遮断腎虚血障害に対して、腎臓皮膜下脂肪組織幹細胞局所注入療法を行い、その有用性、効果、メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

ラット皮下脂肪から皮下脂肪幹細胞 SVF を抽出培養する。腎臓虚血モデルのラットを作成し、虚血腎皮膜下に注入する。その臓器障害への影響、および組織定着を検体より確認し、臓器保護の効果を確認する。

4. 研究成果

この研究は腎細胞癌症例における血管遮断を行い腎部分切除時に生じる虚血性腎障害を臨床再生治療、脂肪由来幹細胞用いていかに防ぐことが可能かポイント

となる。その治療の新しい臨床手技として自己吸引脂肪から脂肪由来幹細胞を細胞分離装置で抽出することにある。

その手技は下部尿路の臨床再生治療として前立腺癌術後難治性腹圧性尿失禁治療を我々のグループは行い短期間の有用性を報告している。本研究はこの手法を有効活用し、腎部分切除術における腎臓容積の減少による、腎臓虚血による腎傷害からの回復を試みることを目的としたものであった。

本教室は腎細胞癌の腎臓摘出術は全国第三位の頻度で行っており50-60%は腎動脈遮断腫瘍部分切除術を積極的に行っている。従来、腎摘出されていた症例も、慢性腎臓病CKDの概念が広がり、腎温存が主流となりつつある。腎部分切除術でも虚血により、臓器傷害は少なからず起こり、より少ないダメージで腎臓を保護させることができればbetterである。

血流と腎臓再生の臨床検討を行うために腎臓虚血の慢性状態にあたる血液透析中に発生した腎細胞癌の調査を行った。また、腎尿管周囲毛細血管血流評価を時空間画像処理で行い、コントロール群約0.6-0.8mm/secであることを明らかにした。

臨床の症例における腎細胞癌に対する腎血管一次遮断(15-40分虚血)腎部分切除を想定とした片腎摘出虚血ラットモデルを用いて皮膜下に脂肪由来幹細胞注入を行い、腎臓機能保護作用を確認しその有用性としては注入した脂肪組織由来幹細胞から分泌されるサイトカイン(

HGF,VEGF)であることを明らかにした。腎臓という臓器がいかに再生されるかが最終的な目標である。今回の研究では、サイトカインの分泌による周囲正常組織への虚血障害よりの保護作用の可能性を確認できた。この手法を、臨床応用可能となれば、より難しい、ずなわち腎部分切除が困難と考えられる症例でも部分切除が可能になる可能性が高まった。ひいては腎臓移植の分野においても、日本では心停止後の移植が多いという現状を踏まえ避けては通れない温阻血により臓器傷害からの回復、臓器保護にも将来的には有用になる可能性が示された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件) (全て査読有)

1. Katsuno T, Ozaki T, Furuhashi K, Kim H, Yasuda K, Yamamoto T, Sato W, Tsuboi N, Mizuno M, Ito Y, Imai E, Matsuo S, Matuyama S. Low serum cultured adipose tissue-derived stromal cells ameliorate acute kidney injury in rats Cell Transplantation 2012 in press
2. Yamamoto T, Gotoh M, Kato M, Majima T, Toriyama T, Kamei Y, Iwaguro H, Mastukawa Y, Funahashi Y. Periurethral injection of autologous adipose-derived regenerative cells for the treatment of male stress urinary incontinence: report of 3 initial cases Int J Urol. 2012 in press
3. Tsuzuki T, Sassa N, Gotoh M. Re: Yann Neuzillet, Xavier Tillou, Romain Mathieu, et al. Renal cell carcinoma (RCC) in patients with end-stage renal disease exhibits many favourable clinical, pathologic, and outcome features compared with RCC in the general population. Eur Urol. 2011;60(4):35-36
4. Nishikimi T, Tsuzuki T, Fujita T, Sassa N, Fukatsu A, Katsuno S, Yoshino Y, Hattori R, Gotoh M. The post-operative pathological prognostic parameters of clear cell renal cell carcinoma in pT1a cases. Pathol Int. 2011;61(3):116-21
5. Sassa N, Hattori R, Tsuzuki T, Watarai Y, Fukatsu A, Katsuno S, Nishikimi T, Fujita T, Ohmae K, Gotoh M. Renal cell carcinomas in haemodialysis patients: does haemodialysis duration influence pathological cell types and prognosis? Nephrol Dial Transplant. 2011;26(5):1677-82
6. Matsukawa Y, Hattori R, Komatsu T, Funahashi Y, Sassa N, Gotoh M. De novo detrusor underactivity after laparoscopic radical prostatectomy. Int J Urol. 2010;17(7):643-8
7. Funahashi Y, Hattori R, Yamamoto T, Sassa N, Fujita T, Gotoh M. Effect of warm ischemia on renal function during partial nephrectomy: assessment with new 99mTc-mercaptoacetyl triglycine scintigraphy parameter. Urology 2010;79(1):60-4
8. Funahashi Y, Hattori R, Yamamoto T, Sassa N, Fujita T, Gotoh M. Effect of warm ischemia on renal function during partial nephrectomy: assessment with new 99mTc-mercaptoacetyl triglycine scintigraphy parameter. Urology. 2012 Jan;79(1):160-4. Epub 2011
9. Tsuzuki T, Sassa N, Gotoh M. Re: Yann Neuzillet, Xavier Tillou, Re: Shahrokh F. Shariat, Richard Zigeuner, Michael Rink, et al. Subclassification of pT3 Urothelial Carcinoma of the Renal Pelvic/Calyceal System is Associated With Recurrence-Free and Cancer-Specific Survival: Proposal for a Revision of the Current TNM Classification. Eur Urol. In press. Eur Urol. 2012 Mar 23
10. Sassa N, Hattori R, Yamamoto T, Kato M, Komatsu T, Matsukawa Y, Funahashi Y, Gotoh M. Direct visualization of renal hemodynamics affected by carbon dioxide-induced pneumoperitoneum. Urology. 2009 Feb;73(2):311-5.

[学会発表] (計 7件)

1. 佐々直人名古屋大学関連施設における尿管腫瘍の予後因子の検討 第99回日本泌尿器科学会総会 2011.4.21~4.25 名古屋
2. 佐々直人  
腎盂癌における staging を中心とした病理組織学的再検討 第98回日本泌尿器科学会総会 2010.4.27~30 岩手
3. 佐々直人  
透析腎癌の臨床病理学的検討 第97回日本泌尿器科学会総会 2009.4.16~19 岡山
4. 佐々直人  
名古屋大学における mRCC に対する分子標的剤治療成績 第49回日本癌治療学会 2011.10.27~29 名古屋
5. 佐々直人  
尿路上皮癌に対する 111C-choline-PET の有用性の検討 第48回日本癌治療学会 2010.10.28~30 京都
6. 佐々直人  
全国のクリニカルパス研究における経尿道的前立腺手術の患者満足度調査 第24回日本Endurology/ESWL学会総会 2010.10.21~23 京都
7. 佐々直人  
名古屋大学における Gemcitabine 化学療法  
の検討 第47回日本癌治療学会 2009.10.22~24 横浜

[図書] (計 0件)

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

佐々直人 (Naoto Sassa)  
名古屋大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：50437026

##### (2)研究分担者

服部良平 (Ryohei Hattori)  
名古屋大学・医学系研究科・准教授  
研究者番号：20324410

山本徳則 (Tokunori Yamamoto)  
名古屋大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：20182636

(3)連携研究者  
なし