

平成 28 年 11 月 28 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2011～2013

課題番号：23618001

研究課題名(和文)放射線化学療法後の消化管障害に対する同種卵膜間葉系幹細胞移植による治療法の開発

研究課題名(英文)Development of a novel treatment with fetal membrane-derived mesenchymal stem cells to enteritis by chemoradiation

研究代表者

大西 俊介(Ohnishi, Shunsuke)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：10443475

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：放射線腸炎は担がん患者の放射線治療や原発事故の被曝によって生じる可能性がある難治性の疾患である。本研究では、放射線腸炎に対する新規治療法の開発を目的として、卵膜由来間葉系幹細胞の効果を動物実験で検討し、その機序を明らかにすることを目標とした。

ラット放射線腸炎モデルに対し、ヒト羊膜由来間葉系幹細胞を投与したところ、病理所見が改善され、炎症性サイトカインの発現が抑制された。また、in vitroの実験においても、腸上皮細胞の放射線照射による障害を保護することが明らかとなった。

以上のことから、卵膜由来間葉系幹細胞は放射線腸炎に対する新規治療法として有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Radiation enteritis is caused by radiation therapy to cancer patients, or by an accident in nuclear power plants. The aim of the study was to explore the new strategy to treat radiation enteritis, and I investigated the effect of fetal membrane-derived mesenchymal stem cells in vivo and in vitro.

Treatment with human amnion-derived mesenchymal stem cells in rats with radiation enteritis ameliorated histological observations and the expression of proinflammatory cytokines. In vitro experiments demonstrated that radiation-induced cell injury was suppressed by human amnion-derived mesenchymal stem cells.

Taken together, amnion-derived mesenchymal cells could be considered as a new treatment for radiation enteritis.

研究分野：再生医学・医療

キーワード：間葉系幹細胞 卵膜 放射線腸炎

1. 研究開始当初の背景

(1) 放射線腸炎は、子宮がんや卵巣がんなどの腹部骨盤臓器に発生する固形がんに対する放射線治療や、原発事故による大量の放射線被曝によって生じる。下痢、下血、腹痛などの症状を認め、線維化が生じて消化管狭窄をきたし、進行すると腸閉塞に至り、外科手術が必要となる場合もある。現在のところ、本疾患に対する有効な治療法はなく、新規治療法の開発がのぞまれている。

(2) 間葉系幹細胞は、骨髄や脂肪組織などに存在し、自己複製能および多分化能を有するため、再生医療材料として注目されている。近年、間葉系幹細胞が抗炎症作用を有すること明らかとなり、移植片対宿主病やクローン病に対する臨床応用が国内外で開始されている。しかしながら、自己の細胞では採取に伴う侵襲性の問題や、原疾患の影響により細胞機能の低下している可能性、一度に得られる細胞数が少ない、慢性疾患で繰り返し投与が必要な場合や、急性疾患で直ちに細胞が必要な場合に用意できない、などが問題点としてあげられる。

(3) 一方、間葉系幹細胞は class II を発現していないため、同種移植によっても拒絶されにくいという特徴があり、実際に同種間葉系幹細胞移植を行う臨床試験も多数行われている。近年、卵膜にも間葉系幹細胞が豊富に含まれていることが明らかとなり、研究代表者らはこれまでに、卵膜由来間葉系幹細胞の分離・同定法を開発し、ラット下肢虚血モデルに対して同種卵膜由来間葉系幹細胞の投与が改善効果を示すことを報告してきた (Ishikane S, **Ohnishi S** et al, Stem Cells 2008;26 (10):2625-2633)。

2. 研究の目的

放射線腸炎に対する卵膜由来間葉系幹細胞を用いた新規治療法の開発を目的とし、動物実験モデルを用いてその効果を確認し、作用機序を明らかにして臨床応用への基盤を整える。

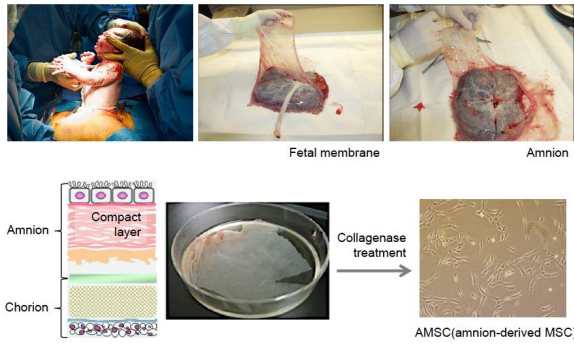
3. 研究の方法

(1) ラット下腹部に放射線照射を行い、放射線直腸炎のモデルを作成した。北海道大学医学部の「医の倫理委員会」の承認および妊婦の同意を得て、帝王切開時に卵膜を提供いただき、羊膜由来間葉系幹細胞を分離・培養した。放射線腸炎モデルマウスに対してヒト羊膜間葉系幹細胞を投与し、その効果を検討した。

(2) ラット腸上皮由来細胞株に対して放射線照射を行って細胞障害を誘導し、ヒト羊膜由来間葉系幹細胞との共培養またはヒト羊膜由来間葉系幹細胞の培養上清を用いて培養を行い、放射線照射による細胞障害の抑制効果を検討した。

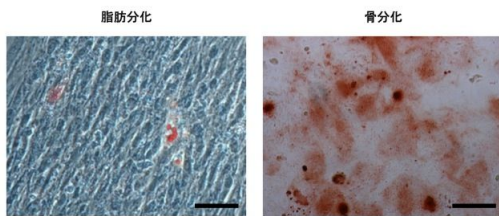
4. 研究成果

(1) 北海道大学病院にて、出産時に母親から提供いただいた卵膜より用手的に羊膜を剥離し、酵素処理を行ったのち、プラスチック培養皿に播種し、10%胎児ウシ血清含有の通常培養液にて培養した。(図1)。培養皿の底面に接着性で紡錘形の形態を示す細胞が数日以内に認められ、良好な増殖能を認めた。

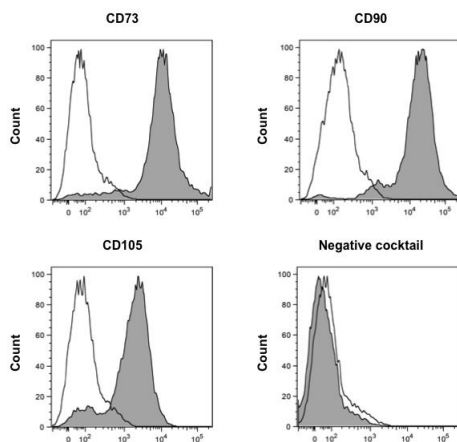


(図1) ヒト羊膜の採取および分離・培養

(2) 増殖した細胞は多分化能, すなわち脂肪分化能および骨分化能を有し(図2), 間葉系幹細胞の特徴的な表面抗原を発現していた(図3)。



(図2) ヒト羊膜由来間葉系幹細胞の多分化能



(図3) ヒト羊膜由来間葉系幹細胞の表面抗原の発現

(2) ラット放射線腸炎モデルに対して, ヒト羊膜由来間葉系幹細胞を投与したところ, 病理学的所見ならびにいくつかの炎症性サイトカインの遺伝子発現の上昇が改善していた。

(3) 培養ラット腸上皮細胞に対する放射線照射によって, 細胞のアポトーシスならびに p53 の活性化が誘導されたが, ヒト羊膜由来間葉系幹細胞との共培養ならびにヒト羊膜由来間葉系幹細胞の培養上清による培養により, アポトーシスや p53 の活性化が抑制された。

(4) 以上の結果より, ヒト卵膜由来間葉系幹細胞がアポトーシス抑制による細胞保護効果によって放射線腸炎モデルの病態を改善することが明らかとなった。したがって, 本治療法は放射線照射による重篤な合併症の1つである放射線腸炎の新規治療法として有用である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

特許出願中のため, 該当なし。

〔産業財産権〕

現在, 特許出願中。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大西 俊介 (Shunsuke Ohnishi)

北海道大学大学院・医学研究科・助教

研究者番号: 10443475

(2) 研究分担者

該当なし ()

研究者番号：

(3)連携研究者

該当なし()

研究者番号：