

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790670

研究課題名(和文) 卵膜由来間葉系幹細胞を用いた急性膵炎に対する新規治療法の開発

研究課題名(英文) Effect of fetal membrane-derived mesenchymal stem cells in rats with acute pancreatitis

研究代表者

桑谷 将城 (Kuwatani, Masaki)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：50431375

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：目的：ラット卵膜由来間葉系幹細胞(MSC)およびヒト羊膜由来MSCの急性膵炎および慢性膵炎に対する効果について、動物モデルを用いて検討した。

方法および結果：急性膵炎モデルはラット膵管にタウロコール酸を注入して作成し、ラット卵膜由来MSCを投与したところ、膵臓における病理スコアおよびマクロファージの浸潤が改善した。また、慢性膵炎モデルは5% dibutyltin dichloride(DBTC)を静注して作成し、ヒト羊膜由来MSCを投与したところ、膵臓におけるMCP-1の発現上昇とアミラーゼの発現低下が改善した。

結論；以上のことから、卵膜由来MSCは膵炎における炎症抑制に寄与すると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Objectives: We investigated the effect of rat FM-derived mesenchymal stem cells (FM-MSCs) and human amnion-derived MSCs (AMSCs) on the therapeutic effects in rats with acute and chronic pancreatitis.

Methods: Acute pancreatitis was induced by intraductal injection of taurocholate, and rat FM-MSCs were transplanted intravenously. Chronic pancreatitis was induced by intravenous injection of 5 mg/kg dibutyltin dichloride, and human AMSCs were transplanted intravenously.

Results: Transplantation of rat FM-MSCs significantly reduced the histological score and infiltration of CD68-positive macrophages in the rat pancreas. Human AMSC transplantation significantly decreased the expression of MCP-1 and attenuated the downregulation of amylase expression in the pancreas. Conclusions: Transplantation of FM-MSCs and AMSCs suppressed the inflammatory reaction of acute and chronic pancreatitis in rats.

研究分野：消化器内科学

キーワード：間葉系幹細胞 膵炎 卵膜

1. 研究開始当初の背景

間葉系幹細胞(MSC)は多分化能を有し、かつ増殖能力の高い細胞であり、骨髄などの多くの組織に存在して新しい再生医療材料として注目されているが、数週間の培養を要するため、急性期疾患の治療目的に自己のMSCを用いることはできない、一方、出産後に通常は廃棄されている卵膜にもMSCが存在することが最近明らかとなり、下肢虚血モデルや心筋炎モデルなどに対する有効性が報告されている。

急性膵炎は、胆石や逆行性胆管膵管造影検査後などに生じ、時に重篤で致死的となる疾患である。特に重症急性膵炎と診断された場合の致死率は10%程度とされている。現在、大量輸液など対症的な治療法が中心であり、新規の有効な治療法の開発が望まれている。

2. 研究の目的

しばしば重篤で致死的となる急性膵炎に着目し、動物モデルを用いて卵膜由来MSCの移植による治療効果およびその機序を明らかにして、急性膵炎の画期的な新規治療法を確立するための基盤を整えることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) マクロファージ細胞株(RAW264.7)に対して、lipopolysaccharide (LPS)やトリプシン刺激を行い、ラット卵膜由来MSCとの共培養による活性化抑制効果を検討した。また、マウス膵腺房細胞株に対するセルレイン刺激や、ヒト膵星細胞株に対するTNF- α 刺激を行い、ヒト羊膜由来MSCの培養上清による細胞障害抑制効果や活性化抑制効果を検討し

た。

(2) タウロコール酸を経乳頭的に逆行性に注入して急性膵炎モデルラットを作成し、ラット卵膜由来MSCを静注してその効果を検討した。また、dibutyltin dichloride (DBTC)を静注して慢性膵炎モデルラットを作成し、ヒト羊膜由来MSCを静注してその効果を検討した。

4. 研究成果

(1) 培養マクロファージに対してLPS刺激やトリプシン刺激を行ったところ、ラット卵膜由来MSCと共培養によりその活性化が有意に抑制された(図1)。

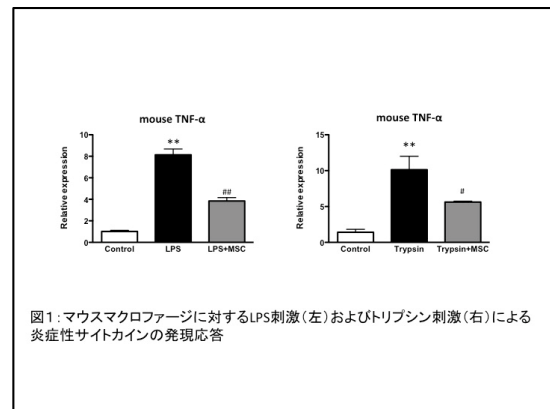


図1: マウスマクロファージに対するLPS刺激(左)およびトリプシン刺激(右)による炎症性サイトカインの発現応答

また、ヒト羊膜由来MSCの培養上清が、培養膵腺房細胞株に対するセルレイン刺激による細胞障害や、培養膵星細胞に対するTNF- α 刺激による活性化を有意に抑制した(図2)。

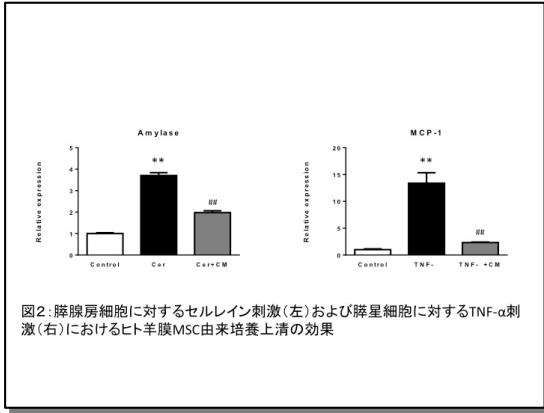


図2:膵腺房細胞に対するセルレイン刺激(左)および膵星細胞に対するTNF- α 刺激(右)におけるヒト羊膜MSC由来培養上清の効果

(2) タウロコールによる急性膵炎モデルに対し、ラット卵膜由来 MSC を投与したところ、浮腫や炎症、壊死の程度が改善し、マクロファージの浸潤が有意に抑制された(図3および図4)。

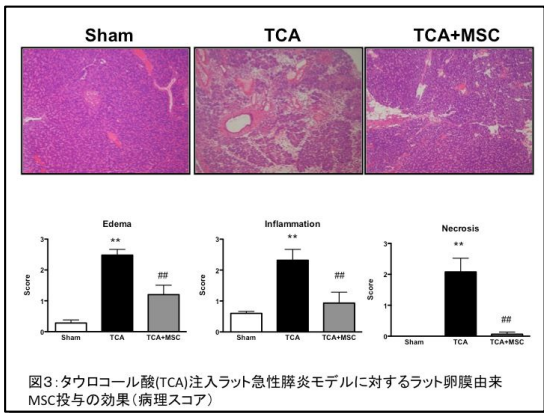


図3:タウロコール酸(TCA)注入ラット急性膵炎モデルに対するラット卵膜由来MSC投与の効果(病理スコア)

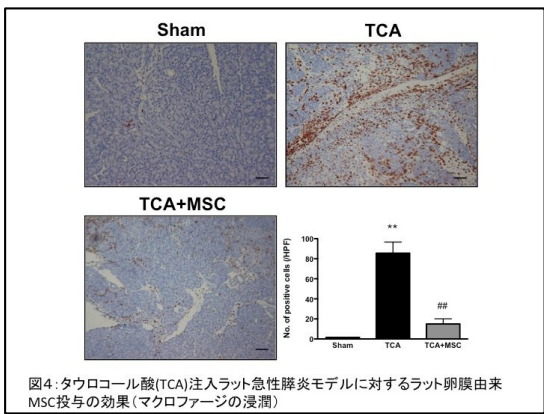


図4:タウロコール酸(TCA)注入ラット急性膵炎モデルに対するラット卵膜由来MSC投与の効果(マクロファージの浸潤)

また、DBTC 投与による慢性膵炎モデルに対し、ヒト羊膜由来 MSC を投与したところ、膵

における MCP-1 の発現上昇ならびにアミラーゼの発現低下が有意に改善された(図5)。

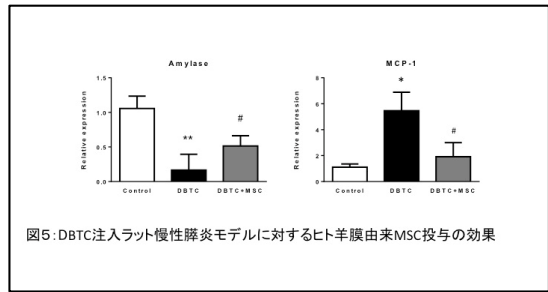


図5:DBTC注入ラット慢性膵炎モデルに対するヒト羊膜由来MSC投与の効果

以上の結果から、卵膜 MSC は急性および慢性膵炎に対する新しい細胞治療のソースとして有用である可能性が示唆された。現在、成果を英文誌に投稿中である。

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0件)

[学会発表](計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

桑谷 将城 (MASAKI KUWATANI)

北海道大学・北海道大学病院・助教

研究者番号: 50431375

(2)研究分担者

該当なし

(3)研究協力者

川久保 和道 (KAZUMICHI KAWAKUBO)

北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：80633578

大西 俊介 (SHUNSUKE OHNISHI)
北海道大学・北海道大学病院・講師
研究者番号：10443475