

令和 4 年 5 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08192

研究課題名(和文) 羊膜由来間葉系幹細胞を用いた放射線性口内炎の治療法の開発

研究課題名(英文) Effect of amnion-derived mesenchymal stem cells for the treatment of radiation-induced oral mucositis

研究代表者

結城 敏志 (Yuki, Satoshi)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：80455633

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)：有効な治療法のない放射線性口内炎の新規治療法として、羊膜由来間葉系幹細胞の培養上清の有効性ならびにその作用機序について、動物実験ならびに細胞実験により明らかにすることを目的として研究を行なった。
羊膜由来間葉系幹細胞の培養上清をゲル化し、ラット放射線性口内炎モデルの舌に塗布して評価したところ、治療群において体重減少の抑制傾向がみられたが、対照群に比して有意差は認めなかった。また、舌の病理組織においても、病理スコアに改善は認められず、舌における種々の炎症性サイトカインの発現も治療群において改善傾向を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭頸部がんに対する放射線治療の合併症としてしばしば発症する放射線性口内炎の新規治療法の開発を目的として、羊膜間葉系幹細胞に着目し、その培養上清を放射線性舌炎モデルラットの舌に塗布するという方法で効果を検討したが、明らかな効果が認められなかった。動物モデルと実臨床での病態の違いや、培養上清に含まれる有効成分の濃度の低さなどが関係しているかもしれず、今後の検討課題である。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to investigate the effect of amnion-derived mesenchymal stem cells (AMSCs) for the treatment of radiation-induced oral mucositis.

We prepared conditioned medium from AMSCs, and applied the conditioned medium on the tongue after irradiation. Body weight loss was slightly improved by the treatment, but there was no statistical significance. Pathological score was not improved by the treatment, and the expressions of several inflammatory cytokines were not improved by the treatment.

研究分野：癌化学療法

キーワード：放射線性口内炎

1. 研究開始当初の背景

放射線性口内炎は、頭頸部領域の悪性腫瘍に対する放射線治療の合併症としてしばしば発症し、疼痛により経口摂取が困難になり、重篤になると放射線治療の中断を余儀なくされるため、そのコントロールは重要である。しかしながら現在のところ有効な治療法は存在しない。

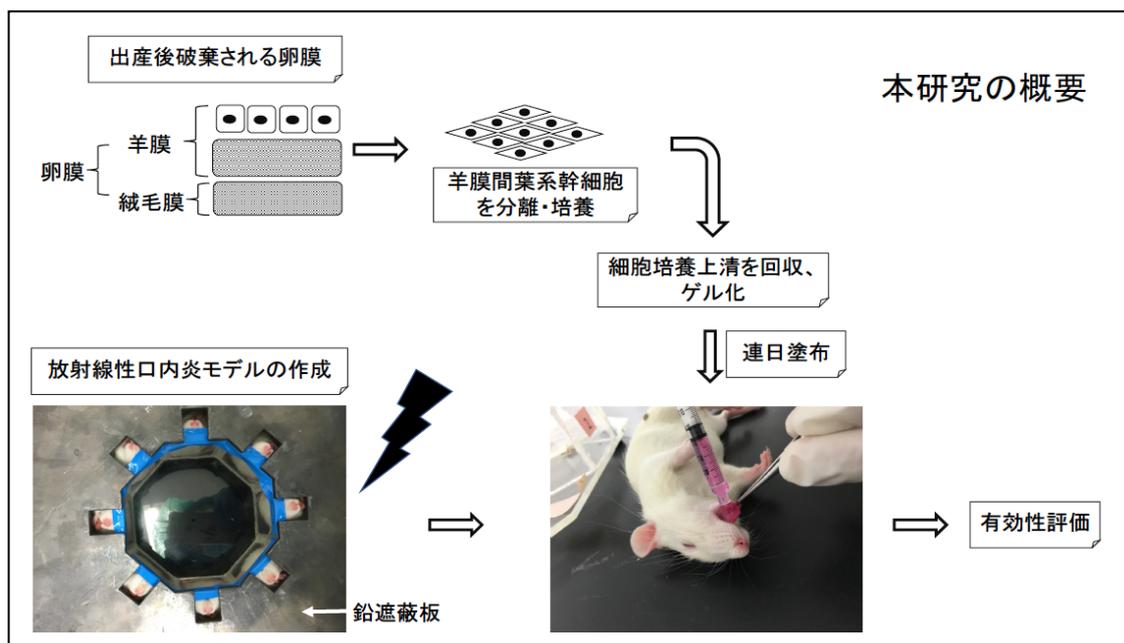
一方、骨髄などに存在する間葉系幹細胞は再生医療材料として注目され、国内でも実臨床での使用が開始されている。その機序として、細胞から分泌される液性因子の関与が重要であると考えられており、また最近では抗炎症作用も注目されている。一方、分娩時に通常廃棄されている羊膜などの胎児付属物にも、間葉系幹細胞が豊富に含まれていることが最近明らかになり、胎児付属物は侵襲性なく採取することができることから、この胎児付属物由来間葉系幹細胞が骨髄や脂肪組織由来間葉系幹細胞にかわる新しい再生医療材料となる可能性がある。

当研究室ではこれまでに、間葉系幹細胞を用いた炎症性消化器疾患の基礎研究並びにトランスレーショナル・リサーチを行ってきた。具体的には、ヒト羊膜由来間葉系幹細胞の静脈内投与が炎症性腸疾患(Cell Transplant 2015, Am J Transl Res 2017)や放射線性直腸炎(Cytherapy 2015)、肝硬変(Transplant Direct 2015)、急性および慢性膵炎(Pancreas 2016)、硬化性胆管炎(Am J Transl Res 2018)の各動物モデルの病態を改善することを明らかにした。また、羊膜由来間葉系幹細胞のパラクライン効果に着目し、培養上清の注腸投与が炎症性腸疾患モデルの病態を改善すること(Am J Transl Res 2017)、その経口投与が食道粘膜下層剥離術後狭窄モデルの食道狭窄を予防することを報告してきた(Gastrointest Endosc 2017)。これらの結果から、羊膜由来間葉系幹細胞より産生される液性因子による抗炎症作用が病態の改善に重要であることが示唆された。

以上の背景から、本研究は羊膜由来間葉系幹細胞から得られる培養上清が放射線性口内炎のあらたな治療法の候補となり得るのか、という問いに答えるものである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、実地臨床の中でよく経験され有効な治療法のない放射線性口内炎の新規治療法として、羊膜由来間葉系幹細胞の培養上清の有効性ならびにその作用機序について、動物実験



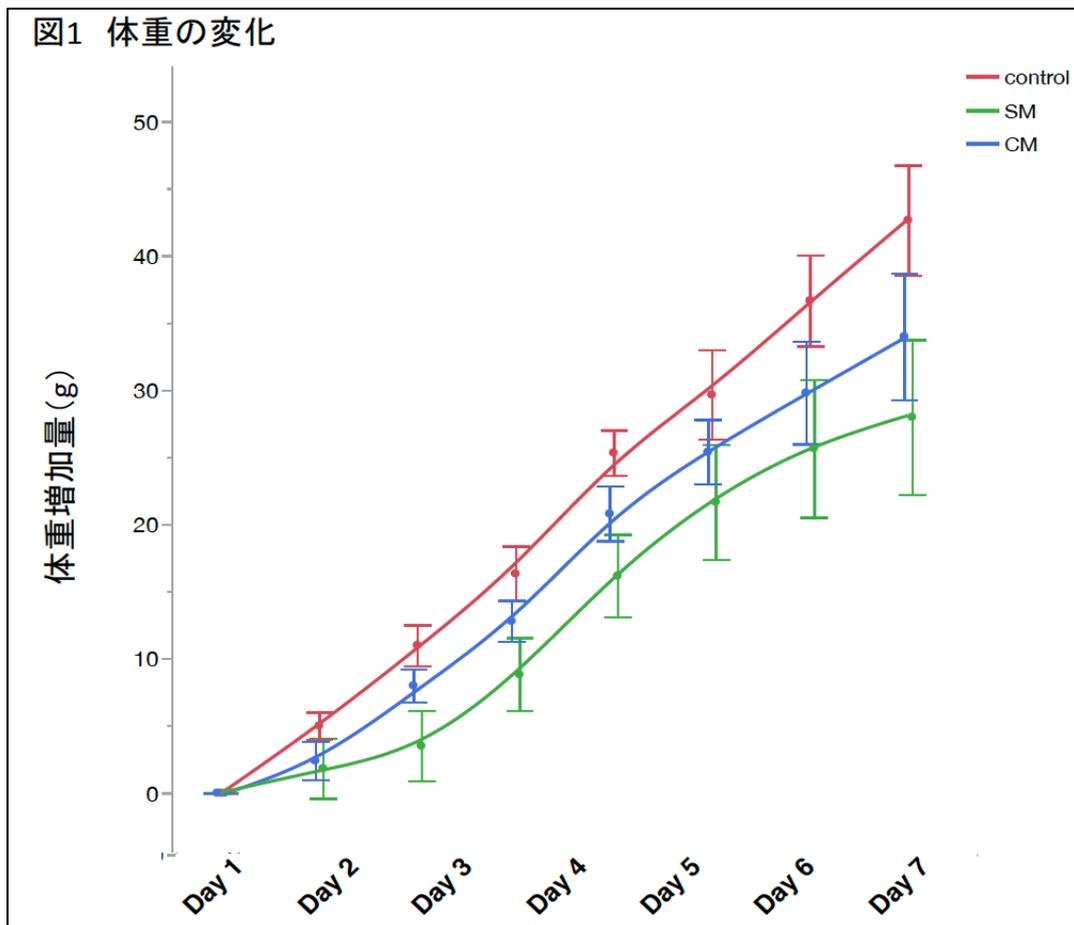
ならびに細胞実験により明らかにすることである。

3. 研究の方法

ラットは7週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットを用いた。放射線照射は直線加速器および鉛遮蔽板を用いて口腔部に15Gyを1回照射した。羊膜由来間葉系幹細胞は帝王切開時に羊膜を採取し、酵素処理を行なって培養した。細胞がコンフルエントになった時点で無血清培地で48時間培養し、その培養液を培養上清とした。培養上清に2%カルボキシメチルセルロースを混和してゲル化し、放射線照射後より連日舌に塗布した。1週間後に屠殺し、病理学的評価ならびに免疫組織染色を行って、炎症細胞浸潤の程度やアポトーシスの程度、血管密度について評価した。また、組織よりRNAを抽出し、TNF- α などの炎症性サイトカインの発現を調べた。

4. 研究成果

羊膜由来間葉系幹細胞の培養上清をゲル化し、ラット放射線性口内炎モデルの舌に塗布して評価したところ、治療群(CM)において体重減少の抑制傾向がみられたが、対照群(SM)に比して有意差は認めなかった(図1)。



また、舌の病理組織においても、Parkins らの方法による病理スコアに改善は認められず(図2)、舌における種々の炎症性サイトカインの発現も治療群において改善傾向を認めなかった(図3)。

図2 病理スコア

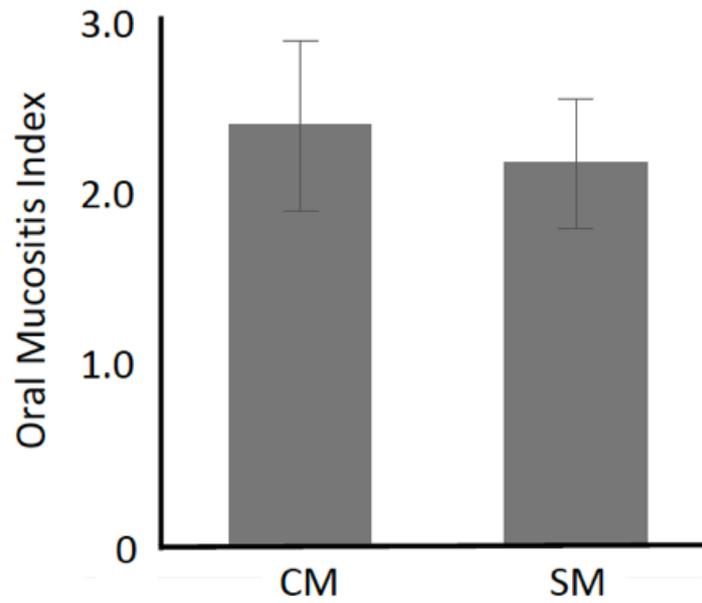
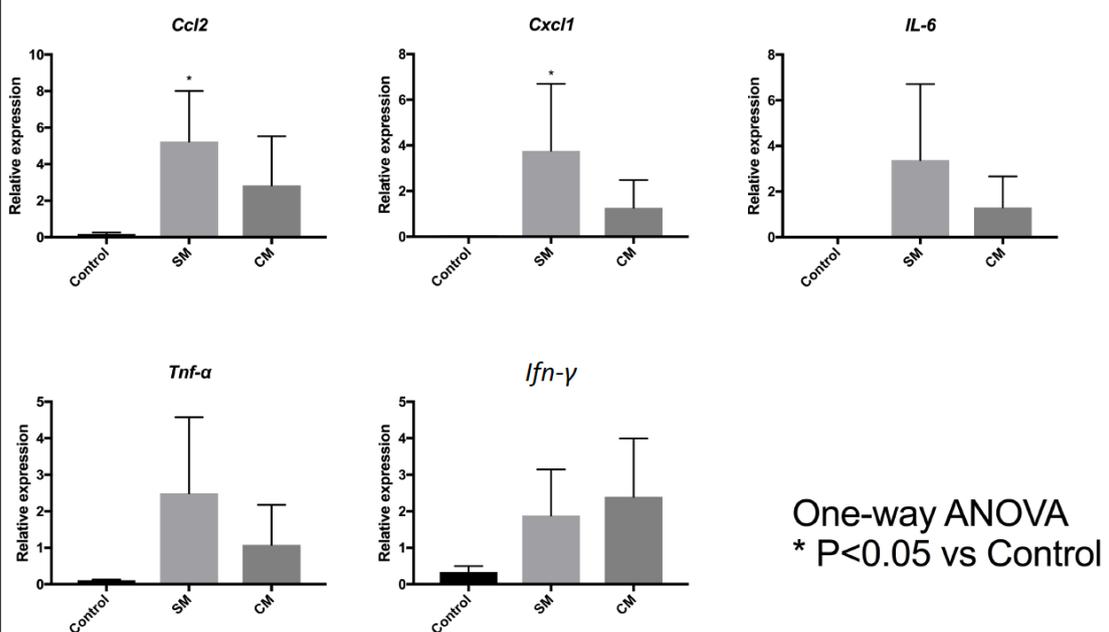


図3 炎症性サイトカインの発現



次に、羊膜由来間葉系幹細胞の抗炎症効果を増強する効果を期待して、特定の遺伝子を強発現する間葉系幹細胞を作成し、培養上清を採取して *in vitro* の系においてその効果を検討したところ、培養マクロファージの LPS に刺激に対する活性化抑制効果が増強された。したがって、間葉系幹細胞を高機能なものに改変することで、その培養上清に抗炎症効果を増強する因子がより多く含まれることになり、治療効果が増強される可能性が示唆された。今後はこの遺伝子改変間葉系幹細胞由来の培養上清を用いて、動物モデルにおける効果を検討する必要がある。

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〕

-

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
研究分担者	大西 俊介 (Ohnishi Shunsuke) (10443475)	北海道大学・薬学研究院・教授 (10101)	

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