

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 11 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23592101

研究課題名(和文) 骨髄間葉系幹細胞の移植免疫における基礎解析

研究課題名(英文) Basic analysis of bone marrow derived mesenchymal stem cells for transplantation immunology

研究代表者

鰐淵 昌彦 (Wanibuchi, Masahiko)

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30343388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究期間に、ヒト間葉系幹細胞の細胞性免疫と液性免疫に対する基礎的データの解析を行った。

1) 骨髄、血液から採集・培養したヒト間葉系幹細胞における、遺伝子発現ならびに細胞表面の抗原提示に関与する分子を解析した。2) ヒト間葉系幹細胞の培養条件を種々変更して、遺伝子発現ならびに細胞表面の抗原提示に関与する分子を解析した。3) 実験的脳梗塞モデルに対して、MSCを経静脈的に投与して、安全性と治療効果を評価した。

研究成果の概要(英文)：Immunological analyses for human bone marrow derived mesenchymal stem cells was performed during study period.

1) Gene expression and cell surface marker molecules were analyzed in human bone marrow or peripheral blood derived mesenchymal stem cells. 2) Gene expression and cell surface marker molecules were analyzed in human bone marrow mesenchymal stem cells cultured various conditions. 3) Safety and therapeutic efficacy were evaluated in experimental stroke model after intravenous infusion of mesenchymal stem cells in rats.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：骨髄間葉系幹細胞

1. 研究開始当初の背景

我々は、成体の骨髄由来の間葉系幹細胞は、脳梗塞や脊髄損傷などの実験的神経疾患モデルにおいて運動機能の改善、梗塞巣の縮小や神経脱落症状などの治療効果を有することを明らかにし、その治療効果を呈するメカニズムとして、神経栄養・保護作用、軸索損傷の再生、脱髄軸索の再有髓化、免疫調節作用、血管新生作用が関与している可能性を提唱してきた。

MSC に関して、免疫反応における基礎解析を詳細に検討する研究は、今後、MSC が多くの疾患で臨床応用されていくことを考慮すると、非常に緊急性が高く極めて重要であるが、しかし、この点に注目した研究は少なく、解析は不十分であった。

一般的に T 細胞の活性化には、抗原提示細胞上の“MHC 分子”を、T 細胞の膜の表面に存在する“T 細胞受容体/CD3 複合体”が認識するだけでは不十分で、それ以外に、抗原提示細胞上にある“接着分子”が、T 細胞上のリガンドと結合する必要があるとされる。もし、接着分子を介した補助シグナルがなく、“T 細胞受容体/CD3 複合体”からのシグナルのみの場合、T 細胞は活性化せず、“アナジー”と呼ばれる免疫不応答状態となるのみである。

このように T 細胞の活性化に重要なシグナルを伝達する“接着分子”には、例えば免疫グロブリンスーパーファミリー、カドヘリンスーパーファミリー、インテグリンファミリー、セレクトリンなどがあり、これらの

シグナルが適切に T 細胞に達すると、T 細胞内でチロシンリン酸化 ⇒ カルシウムイオン濃度の上昇 ⇒ サイトカイン mRNA の増幅 ⇒ T 細胞自身のクローン増殖 ⇒ 種々のサイトカイン産生、を段階的に引き起こすようになる。

我々が、MSC における免疫関連遺伝子の発現を DNA マイクロアレイで網羅的に解析した結果、MSC は明らかに抗原提示細胞と成り得る細胞であることが判明した。このため、移植時の免疫反応の機序を、MSC 自身およびホストの反応の両面から詳細に解析することは急務であり、かつ極めて重要であると考え、本研究を計画した。

2. 研究の目的

近年、再生医療分野において、骨髄の間葉系幹細胞 (MSC) は、取り扱いが容易で、安全性が高いことから、既に多くの疾患で臨床応用されており、医療現場でも非常に注目されている幹細胞である。札幌医科大学では、既に脳梗塞患者に対して MSC を静脈内に移植する臨床研究を行い、安全性および良好な結果が得られている。また他の疾患でも臨床的な有用性が報告されており、今後益々、臨床現場でのニーズは高まると予想されている。

現在までのところ、MSC を用いた臨床研究の多くは、自己の MSC を用いたものであるが、今後、疾患によっては他家移植が必要となる場合も想定される。しかし、現在

のところ、MSC をドナー細胞とした場合の移植免疫の基礎解析は不十分である。本研究では、MSC の細胞膜表面にある接着分子、特に免疫グロブリンスーパーファミリーに着目して、移植免疫の機序解析を行う。また、それらの知見に基づき、新たな治療方法を開発する予定である。

3. 研究の方法

1) MSC の表面分子 (MHC および接着分子) およびシグナル伝達を、DNA アレイ、リアルタイム qPCR、免疫染色等を用いて解析する。

2) 脳梗塞モデルラットに対して、MSC を移植することで、安全性と治療効果を比較解析する。

4. 研究成果

本研究期間に、ヒト間葉系幹細胞の細胞性免疫と液性免疫に対する基礎的データの解析を行った。

1) 骨髄、血液から採集・培養したヒト間葉系幹細胞における、遺伝子レベルならびに細胞表面の抗原提示に関与する分子、サイトカイン放出パターンを DNA マイクロアレイ、FACS、ELISA などを用いて詳細に解析した。

2) ヒト間葉系幹細胞の培養条件を種々変更して、細胞性免疫に関与する CD 分子の DNA レベルでの発現、fluorescence-

activated cell sorting による細胞表面への発現、ケモカインなどの液性免疫の関与を解析した。これらの MHC や CD 分子の発現状態、炎症性サイトカインについて得られた結果は、骨髄間葉系幹細胞の移植における細胞自体の遊走・生着、移植後の宿主側の変化など、臨床への応用を想定したもので、生体内での反応予測など免疫学的に重要なデータになると考えられる。

3) 実験的脳梗塞モデルに対して、MSC を経静脈的に投与して、安全性と治療効果を評価した。

以上のように、補助金は有効に使用された。

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1件)

Suzuki J, Sasaki M, Harada K, Bando M, Kataoka Y, Onodera R, Mikami , Wanibuchi M, Mikuni N, Kocsis JD, Honmou O., Bilateral Cortical Hyperactivity Detected by fMRI Associates with Improved Motor Function Following Intravenous Infusion of Mesenchymal Stem Cells in a Rat Stroke Model. Brain Reserach 1497. 15-22 (2013) 査読有
doi: 10.1016/j.brainres.2012.12.028. Epub 2012 Dec 27.

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鰐淵 昌彦 (Wanibuchi, Masahiko)

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30343388

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：