

論 文 内 容 要 旨

Localization and Maintenance of Engrafted
Mesenchymal Stem Cells Administered via Renal
Artery in Kidneys with Ischemia-Reperfusion Injury

(腎虚血再灌流障害に対する腎動脈を介した
骨髄間葉系幹細胞移植による線維化抑制効果)

International Journal of Molecular Science,
22(8):4178, 2021.

主指導教員：正木 崇生教授

(広島大学病院 腎臓内科学)

副指導教員：服部 登教授

(医系科学研究科 分子内科学)

副指導教員：東 幸仁教授

(原爆放射線医科学研究所 ゲノム障害病理)

山田 有美

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

背景：

急性腎障害：acute kidney injury (AKI) の発症は将来的な慢性腎臓病：chronic kidney disease (CKD) 発症のリスクとなる(See EJ, et al. *Kidney Int.* 2019; 95: 160–172)。例えば、高齢者 (Schmitt R, et al. *Am J Kidney Dis.* 2008; 52: 262–271)、糖尿病患者 (Thakar CV, et al. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011; 6: 2567–2572)、術後の患者 (Palomba H, et al. *J Nephrol.* 2017; 30: 567–572) においては AKI 発症後の腎機能障害の回復が遅延し、CKD へ移行するリスクが高いとされる。AKI に対する根本的な治療はなく、原因となる病態や疾患に対する治療が中心となる。

間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell; MSC) は骨髄、臍帯血、脂肪組織等から単離される多能性細胞であり、多分化能と自己再生能を有する。さらに MSC は傍分泌によって作用を発揮し、障害された組織の修復に働くことが報告されている (Caplan A, et al. *J Cell Biochem.* 2006; 98: 1076–1084)。

ラット腎虚血再灌流障害 (ischemia-reperfusion injury; IRI) モデルでヒト MSC 移植による AKI に伴う炎症や酸化ストレスの軽減 (Rodrigues CE, et al. *Stem Cell Res Ther.* 2017; 8:19) および腎線維化抑制効果 (Monteiro Carvalho Mori da Cunha MG, et al. *PLoS One.* 2015; 10: e0136145) が報告されているが、MSC の生着期間により治療効果が得られる条件は明らかでない。我々は、MSC の投与が炎症細胞の浸潤を減少させることによって線維化を抑制することを明らかにしており (Ueno T, et al. *Kidney Int.* 2013; 84: 297–307)、MSC の培養を無血清培地に変更することで、治療効果が増大することも明らかにしている (Yoshida K, et al. *Stem Cells transl Med.* 2018; 7: 893–905)。

本研究では、AKI から CKD への移行が観察可能である一側 IRI のラットモデルを用いて無血清培地で培養したヒト MSC のラット腎への生着を、選択的に腎動脈から投与する経路と下大静脈より全身投与する経路で比較するとともに、それぞれの投与方法で IRI で誘導される腎線維化に対する抑制効果を検討した。

方法：

- 1) 8週齢のSDラット(オス)の左腎動脈を60分間クランプ後に、CellTracker™ CM-DiI Dyeで染色しラベル化したヒトMSC 5.0×10^5 cells/匹を腹部大動脈左腎動脈分岐部の上下をクランプ後に左腎動脈分岐部に投与した(RA群)。移植1、3、7、21日後に屠殺し、左腎、肺、脾に生着しているMSCを、蛍光顕微鏡を用いてそれぞれ算出した。また、静脈投与での生着数を比較するため、下大静脈より同様にCM-DiI Dyeで染色したヒトMSC 2.5×10^6 cells/匹を投与し、観察した(5×IV群)。
- 2) 方法1)と同量のラベル化していないヒトMSCをラットIRIモデルへ移植し、動脈投与群、静脈投与群それぞれ21日後に線維化抑制効果を検討した。静脈投与群は動脈投与群と同じ細胞数(IV群)でも比較した。

結果：

- 1) ラット IRI モデルにおいてヒト MSC を腎動脈近傍より投与すると、21 日間の生着が確認された。MSC は腎組織内で最も多く観察され、細胞数は経時的に減少した。分布領域は 3 日目までは糸球体に多く、以降は尿細管や間質での生着数が増加した。一方で、下大静脈から投与した場合は、多くの細胞は肺で観察され、7 日目にはほぼ消失していた。
- 2) RA 群においてヒト MSC は IRI により誘導された線維化を有意に抑制した。IV 群ではこの抑制が有意に減弱していた。5 倍のヒト MSC を下大静脈投与した場合 (5×IV 群) の抑制効果は RA 群とほぼ同様であった。
- 3) RA 群においてヒト MSC は IRI により誘導された α SMA、TGF- β を有意に抑制した。IV 群ではこの抑制が有意に減弱した。5×IV 群でも α SMA、TGF- β の抑制がみられ、たが、RA 群との有意差は得られなかった。

まとめ：

静脈投与と比較して、MSC を腎動脈から投与することで、腎虚血再灌流障害で生じる腎線維化に対する強い抑制効果と MSC の長期生着が確認できた。この理由として、MSC を腎動脈へ投与することで、MSC が他の臓器に捕らえられずに直接障害部位に生着することが関与していると考えた。腎臓への MSC の生着数は 3 日目までは糸球体に多く、以降は尿細管や間質における生着数が増加しており、IRI 後の障害部位への生着に関連していることが示唆された。障害臓器へ直接 MSC を投与することは、MSC を用いた臓器障害を軽減する治療法として有用であると考えられる。