

脾臓へ到達したASCがEVsを放出し、そのEVsが免疫制御マクロファージへ特異的に移送される。EVsの移送によりマクロファージの免疫制御機能が強化され、マクロファージは脾臓から循環血中へ入り腎臓へ到達することで、腎臓の修復に寄与した。

## 脂肪間葉系幹細胞が重症腎炎を改善！ —臓器連関・細胞外小胞の生体内動態から解明—

名古屋大学大学院医学系研究科腎臓内科学の島村湧子 大学院生（現在 コロンビア大学 博士研究員）、丸山彰一 教授、同大学医学部附属病院腎臓内科の古橋和弘 病院講師、田中章仁 病院助教と同大学大学院医学系研究科分子腫瘍学の鈴木洋 教授の共同研究により、脂肪由来間葉系幹細胞<sup>※1</sup>（ASC）が骨髄由来間葉系幹細胞と比較して致死性重症腎炎を劇的に改善させることを見出し、その作用機序について、投与したASCの生体内動態から解明しました。この研究は、日本医療研究開発機構(AMED)の再生医療実現拠点ネットワークプログラム、国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)の創発的研究支援事業の支援を受けて行いました。

本研究でASCは劇的に腎障害を改善させることが分かりましたが、腎臓にはASCそのものはほとんど存在せず、ASC由来の細胞外小胞（EVs）<sup>※2</sup>の形で存在していました。EVsは最近注目を集める細胞間コミュニケーションツールであり、細胞が自分の細胞成分を細胞のかけらに包んで相手の細胞へ受け渡しています。これにより、あるひとつのタンパク質だけでなく、複数の蛋白を複合的に同時に受け渡すことが可能です。本研究では、脾臓へ到達したASCがEVsを放出し、そのEVsが免疫制御マクロファージ<sup>※3</sup>へ特異的に移送されることを見いだしました。さらに、EVsの移送によりマクロファージの免疫制御機能が強化され、同マクロファージは脾臓から循環血中へ入り腎臓へ到達することで、腎臓の修復に寄与していることを最新のイメージング技術・細胞機能解析から解き明かしました。また、投与したASCが生体内で分泌したEVの検出に成功したことで、生体内で産生されたASC由来EVsが免疫制御マクロファージに誘導した機能的変化を次世代シーケンサー<sup>※4</sup>によるRNAseq<sup>※5</sup>解析から世界で初めて明らかにしました。

今後は、本研究で解明したASCの作用機序を、ASCによる治療効果を高める治療法へ応用し、細胞を直接投与しないEVsを用いた新たな治療法へ発展させていきます。

本研究成果は「Communications Biology」（2022年7月28日付電子版）に掲載されました。

## ポイント

- 本研究では、脂肪間葉系幹細胞(ASC)が重症腎炎を劇的に改善させることを見出した。
- また、ASC の臓器連関・細胞外小胞の生体内動態を解明した。
- さらに、ASC を体内に投与しない新たな治療法へ応用できる可能性を示した。

## 1. 背景

間葉系幹細胞 (MSC) は優れた再生促進能と免疫調整能があることが知られており、既存の薬剤で治療効果が期待できない難治性疾患に対して MSC の治療効果が期待されています。そのため、現在では世界的に 1000 を超える臨床試験が行われ、難治性疾患においてその有効性が示されています。我々も、難治性 IgA 腎症に対して、脂肪由来間葉系幹細胞(ASC)を用いた臨床研究を行っています。一方で、MSC はその高い治療効果から新たな再生医療として世界的に注目を集め、その治療機序に関しても精力的に行われていますが、どれも単一の分子ではその作用機序に関して完全には説明ができていません。その作用機序が解明されれば、MSC の治療効果をさらに増強できるだけでなく、さらには細胞を投与せずに治療可能な創薬への手がかりをつかむことが可能となります。これまでの動物モデルでの MSC 研究では、マウスやラットの MSC の使用がほとんどでしたが、動物種が変わると MSC の作用や機序も変わることが想定されます。そこで、本研究ではヒト MSC を使用することで、臨床へ直結する機序解析を行うことを目指しました。今回、我々は分子レベルでのこれまでの機序解析とは全く別のアプローチをとり、生体内に投与した ASC がどこでどのように作用しているのかという体内動態および細胞間コミュニケーションに注目することで、重症腎炎に対する ASC の作用機構について明らかにしました。

## 2. 研究成果

本研究グループは、脂肪由来間葉系幹細胞 (ASC) が骨髄由来間葉系幹細胞と比較して致死性重症腎炎を劇的に改善させることを見出し (図 1)、その作用機序について投与した ASC の生体内動態から解明しました。ASC は劇的に腎障害を改善させましたが、腎臓には ASC そのものはほとんど存在せず、脾臓に多く存在していました。そこで、脾臓を介して ASC が治療効果を発揮しているのか明らかにするために、脾臓を摘出した後に ASC を投与し、腎炎に対する治療効果を評価しました。

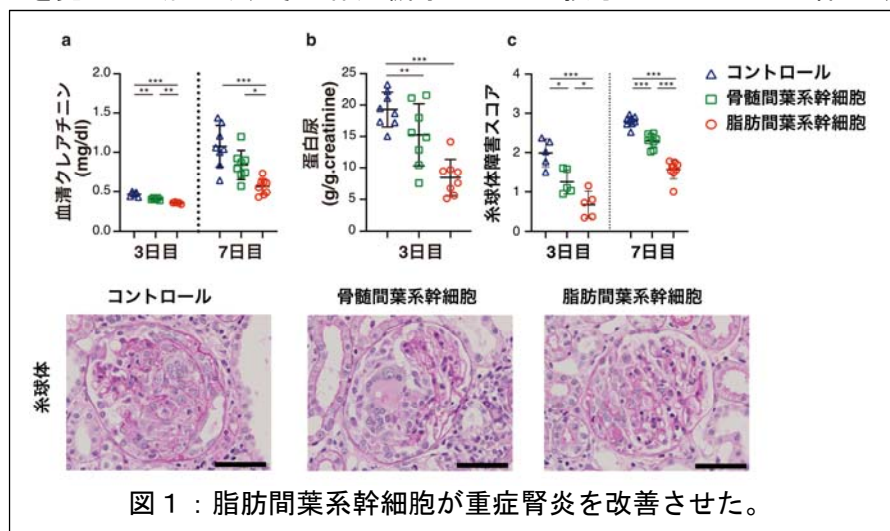


図 1 : 脂肪間葉系幹細胞が重症腎炎を改善させた。

脾臓を摘出すると、ASC の腎炎に対する治療効果が消失し、腎臓における制御性 T 細胞の誘導も消失することを見出しました。

一方で、腎臓において標識した ASC の細胞膜成分は、ASC そのものではなく、ASC 由来の細胞

外小胞 (EVs) の形で存在することをフローサイトメトリー解析と高解像度顕微鏡により明らかにしました (図 2)。EVs は最近注目を集める細胞間コミュニケーションツールであり、細胞が自分の細胞成分を細胞のかけらに包んで相手の細胞へ受け渡しています。これにより、あるひとつのタンパク質だけでなく、複数の蛋白を複合的に同時に受け渡すことが可能となります。本研究では、脾臓へ到達した ASC が EVs を放出し、その EVs が免疫制御マクロファージへ特異的に移送されることを見いだしました。さらに、EVs の移送によりマクロファージの免疫制御機能が強化され、同マクロファージは脾臓から循環血中へ入り腎臓へ到達することで、腎臓の修復に寄与していることを最新のイメージング技術・細胞機能解析から解き明かしました。また、投与した ASC が生体内で分泌した EV の検出に成功したことで、生体内で産生された ASC 由来 EVs が免疫制御マクロファージに誘導した機能的変化を次世代シーケンサーによる RNAseq 解析から世界で初めて明らかにしました (図 3)。

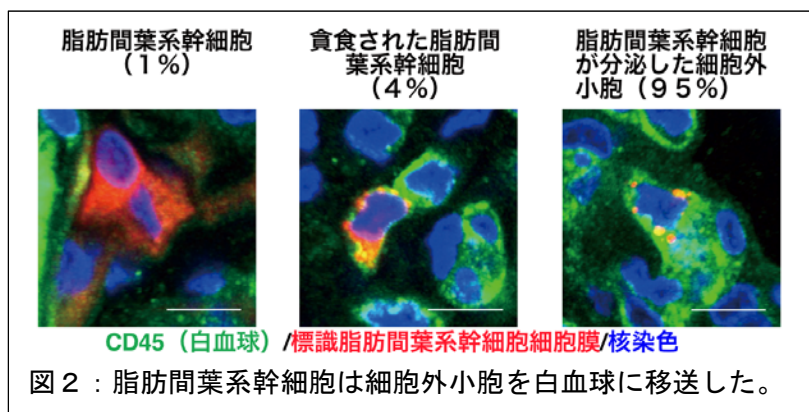


図 2 : 脂肪間葉系幹細胞は細胞外小胞を白血球に移送した。

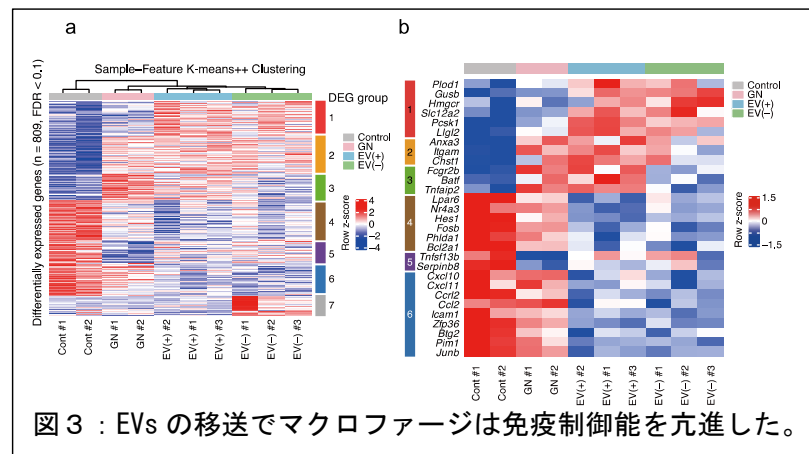


図 3 : EVs の移送でマクロファージは免疫制御能を亢進した。

### 3. 今後の展開

当研究室では、脂肪は骨髄に比較し採取が容易であり、その優れた増殖能から脂肪由来間葉系幹細胞に注目しています。本研究で、骨髄由来間葉系幹細胞よりも脂肪由来間葉系幹細胞が高い免疫調整能・臓器保護能を有することを見出しました。今後、腎炎以外にも様々な難治性炎症疾患に対する新規治療法として臨床応用したいと考えています。本研究で解明した脂肪由来間葉系幹細胞の作用機序を、治療効果をより高めた新規治療法へ応用し、さらには細胞そのものを直接投与しない EVs を用いた革新的治療法へ発展させます。

### 4. 用語説明

#### ※1 間葉系幹細胞

幹細胞とよばれる分化可能な細胞の一種であり、骨や筋肉、神経などに分化する能力を持つ。再生医療の分野において広い用途に対応できるものとして大きな期待を集めている。また、間葉系幹細胞は、採取が比較的容易で、増殖能に優れており、製剤化に当たっても低コスト化が図りやすいという利点がある。

## ※2 細胞外小胞 (EVs)

ほぼ全ての細胞から分泌される脂質二重膜構造からなる小胞である。膜表面には元の細胞が持っていた蛋白が存在し、小胞内には元の細胞が保有していた RNA やミトコンドリアが含まれる。細胞同士のコミュニケーション手段として生物は使用している。医療現場では、この EVs を用いて血液一滴から癌の診断を行なうことが可能となり、臨床現場でも新たな医療ツールとして使用されている。

## ※3 マクロファージ

動物の組織内に分布する大形のアメーバ状細胞。生体内に侵入した細菌などの異物を捕らえて細胞内で消化する、炎症物質を産生し組織炎症を惹起する、それらの異物に抵抗するための免疫情報をリンパ球に伝えるなど多彩な機能を有する細胞。別名大食細胞。貪食細胞。

炎症を促進する炎症性マクロファージと炎症症を改善させる免疫制御マクロファージが存在する。

## ※4 次世代シーケンサー

次世代シーケンサーは数千万もの DNA 分子の配列を同時に決定可能であり、高度かつ高速な処理が可能となりました。これにより、既知遺伝子の発現量定量だけでなく、新規遺伝子の検出定量も可能です。

## ※5 RNAseq

次世代シーケンサー (NGS) により、細胞の中の mRNA 配列を解読して、発現量の定量、新規転写配列の発見ができる。

## 5. 発表雑誌

掲雑誌名 : Communications Biology

論文名 : Mesenchymal stem cells exert renoprotection via extracellular vesicle-mediated modulation of M2 macrophages and spleen-kidney network

著者 :

Yuko Shimamura<sup>1†</sup>, Kazuhiro Furuhashi<sup>1†\*</sup>, Akihito Tanaka<sup>1†</sup>, Munetoshi Karasawa<sup>1</sup>, Tomoya Nozaki<sup>1</sup>, Shintaro Komatsu<sup>1</sup>, Kenshi Watanabe<sup>1</sup>, Asuka Shimizu<sup>1</sup>, Shun Minatoguchi<sup>1</sup>, Makoto Matsuyama<sup>2</sup>, Yuriko Sawa<sup>1</sup>, Naotake Tsuboi<sup>3</sup>, Takuji Ishimoto<sup>1</sup>, Hiroshi I. Suzuki<sup>4, 5</sup>, Shoichi Maruyama<sup>1</sup>

†: These authors contributed equally

所属 :

<sup>1</sup> Department of Nephrology, Internal Medicine, Nagoya University Graduate School of Medicine, Showa-ku, Nagoya, Aichi, Japan.

<sup>2</sup> Division of Molecular Genetics, Shigei Medical Research Institute, Minami-ku, Okayama, Japan.

<sup>3</sup>Department of Nephrology, Fujita Health University School of Medicine, Toyoake, Aichi, Japan.

<sup>4</sup> Division of Molecular Oncology, Center for Neurological Diseases and Cancer, Nagoya University Graduate School of Medicine, Showa-ku, Nagoya, Aichi, Japan.

<sup>5</sup> Institute for Glyco-core Research (iGCORE), Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya, Aichi, Japan

DOI : 10.1038/s42003-022-03712-2

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Com\\_220729en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Com_220729en.pdf)