

平成 28 年 11 月 15 日

骨髄・iPS 細胞由来免疫調整性 M2 マクロファージによる半月体形成性系球体腎炎の新規治療法を開発

名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長・高橋雅英）腎臓内科学の杜 邱娜（どうちゆな）大学院生、坪井 直毅（つぼい なおたけ）講師、丸山 彰一（まるやま しょういち）教授らの研究チームは、骨髄あるいは iPS 細胞から人為的に誘導した CD206 陽性 M2 マクロファージが、透析に至る可能性の高い半月体形成性系球体腎炎に対し、優れた治療効果を有することをマウスモデルにおいて明らかにしました。

マクロファージ^{*1}は、異物を貪食し処理する人体の掃除屋ですが、過度に活性化すると組織炎症が生じることが知られています。しかしながら、昨今マクロファージには従来の炎症性マクロファージ(M1 マクロファージ)に加え、組織修復の過程で炎症の収束などの機能を発揮する新たな細胞群(M2 マクロファージ)の存在が、明らかとなってきました。

半月体形成性系球体腎炎は、高率で腎機能が廃絶する予後不良の難知性疾患群です。その治療には、ステロイドやシクロフォスファミド^{*2}といった免疫抑制剤が使用されますが、それによる感染症をはじめとする副作用が、致命的となる場合があります。そこで、研究チームは、免疫調整能を有するとされる M2 マクロファージ投与が、マウス半月体形成性系球体腎炎モデルにおいて、腎保護効果を果たすか検討しました。その結果、骨髄あるいは iPS 細胞から人為的に誘導した CD206 陽性 M2 マクロファージが、半月体形成性系球体腎炎に優れた治療効果を示すことを世界で初めて見出しました。

本研究により、CD206 陽性 M2 マクロファージ投与は、半月体形成性系球体腎炎患者に対する有効な治療法につながる可能性が示唆されました。同時に、CD206 陽性 M2 マクロファージの誘導前細胞として骨髄細胞だけでなく、採取に侵襲を伴わない iPS 細胞も有望であると示されました。

本研究成果は、米国病理学会雑誌『The American Journal of Pathology』（米国東部時間 11 月 14 日付けの電子版）に掲載されました。

骨髄・iPS細胞由来免疫調整性M2マクロファージによる半月体形成性糸球体腎炎の新規治療法を開発

ポイント

- 骨髄細胞あるいはiPS細胞から人為的に誘導したCD206陽性M2マクロファージの投与は、高率で腎機能が廃絶する半月体形成性糸球体腎炎に対し、マウスモデルにおいて優れた治療効果が認められた。
- 細胞実験において、骨髄由来CD206陽性M2マクロファージ(CD206陽性M2BMM)は、炎症性マクロファージ(M1マクロファージ)をCD206陽性M2細胞へ形質転換し、免疫調整Tリンパ球の誘導を促進した。
- CD206陽性M2BMM投与は、疾患動物の脾臓と腎所属リンパ節において、免疫制御性Tリンパ球(Treg)誘導を促進し、腎障害を軽減した。

1. 背景

近年マクロファージには、急性期炎症を担うclassically activated macrophage (M1マクロファージ)と炎症を鎮静化させ組織修復を担うalternative activated macrophage(M2マクロファージ)が存在することが示されています。糸球体腎炎をはじめとする腎疾患全般において、腎組織へのマクロファージ浸潤が認められるため、同細胞は腎障害発症とその進展に大きな役割を果たすと考えられています。

本研究では、急速に腎機能低下をきたす半月体形成性糸球体腎炎(CGN)のマウスモデルに、人為的に誘導したM2マクロファージを投与し、その腎障害改善効果を検討しました。

2. 研究成果

まず、マウス骨髄細胞あるいはiPS細胞より誘導したマクロファージをIL-4とIL-13^{*3}の存在下に培養し、M2マクロファージへの分化を試みました。得られた細胞は、共にCD206を細胞表面に提示し、かつM2マクロファージ特異的遺伝子群を発現していました(以後、骨髄由来CD206陽性M2マクロファージをCD206陽性M2BMM、iPS細胞由来CD206陽性M2マクロファージをCD206陽性iPS-M2Mと表記)。そこで、マウスがCGN発症4日後に前分化マクロファージ(M0BMM)、CD206陽性M2BMM、並びにM1マクロファージ(M1BMM)をそれぞれ静脈投与し、治療効果を検討しました(Figure.1A-D)。

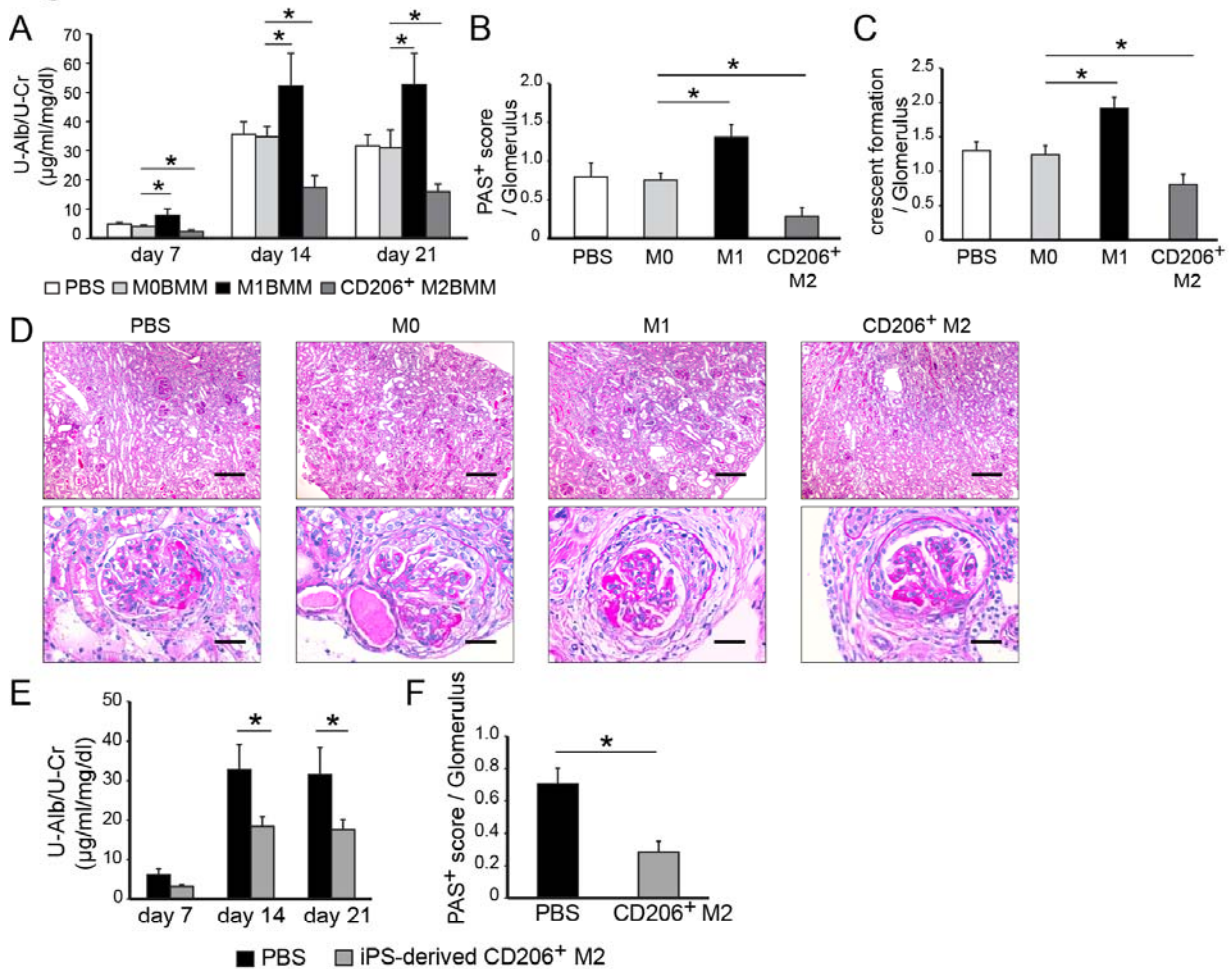
CD206陽性M2BMM投与は、M0BMMに比しタンパク尿、組織障害を有意に改善させ、かつ障害腎糸球体における炎症性白血球数や腎臓における炎症性サイトカイン^{*4}分泌を有意に低下させました。一方で、M1BMM投与は腎障害を悪化させました。また興味深いことに、iPS細胞由来のCD206陽性iPS-M2M投与群でも、骨髄由来のCD206陽性M2BMMと同様の腎障害改善効果を得ることができました(Figure.1E,F)。

次に、CD206陽性M2BMMをM1型マクロファージと共に培養したところ、接触するM1型マクロファージをM2形質に誘導することが、明らかとなりました(Figure.2)。同様に、CD206陽性M2BMMと脾臓から得られたTリンパ球を共培養した実験では、Tリン

パ球が免疫制御性 T 細胞(Treg) ※⁵へ誘導され(Figure.3A,B)、かつ CGN 発症 21 日後の脾臓と腎所属リンパ節を評価したところ、CD206 陽性 M2BMM 治療群において Treg の有意な増加がみられました(Figure.3D,E)。

以上より、CD206 陽性 M2 マクロファージは、M1 マクロファージを CD206 陽性 M2 細胞へ形質転換し、かつ T リンパ球を免疫制御性 T リンパ球(Treg)へ導くことで、腎障害を軽減したものと考えられます。

Figure 1



骨髄由来CD206⁺ M2マクロファージ投与はマウス半月体形成糸球体腎炎を改善する(A-D)。

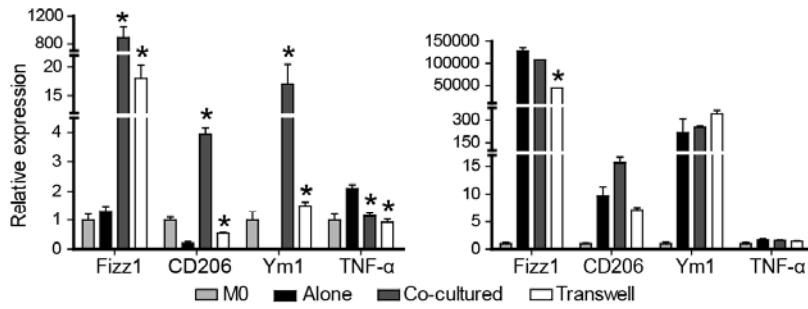
A: 尿蛋白 B: PAS陽性糸球体沈着物 C: 糸球体半月体形成

D: 腎組織切片PAS染色像

iPS細胞由来CD206⁺ M2マクロファージも骨髄由来細胞同様の腎障害改善効果は発揮する(E, F)。

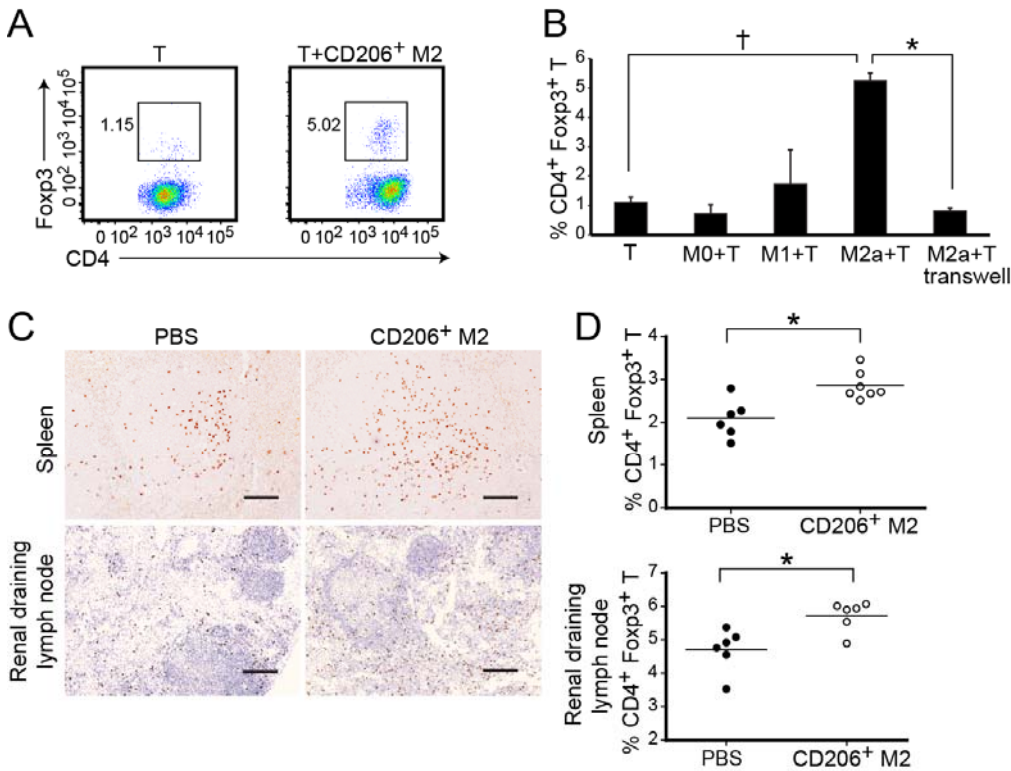
E: 尿蛋白 F: PAS陽性糸球体沈着物

Figure 2



骨髄由来CD206⁺ M2マクロファージは接触するM1マクロファージをM2細胞へ形質転換する(共培養実験)。
 左: 共培養後単離したM1マクロファージのM2特異的遺伝子(Fizz1, CD206, Ym1)増強とM1特異的遺伝子(TNF-α)発現低下。
 右: 共培養後単離した骨髄由来CD206⁺ M2マクロファージのM2形質は保持される。

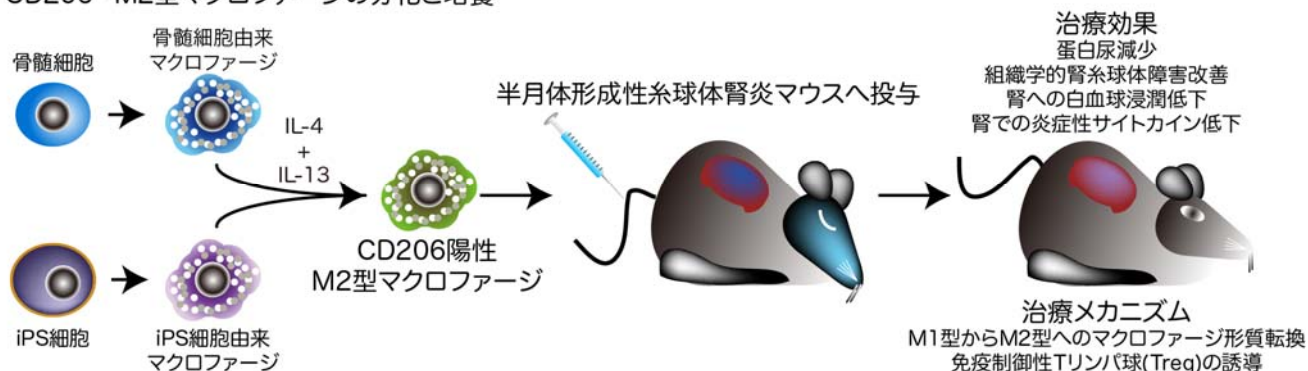
Figure 3



共培養実験での骨髄由来CD206⁺ M2マクロファージによる免疫調整性Tリンパ球(Treg)誘導。
 A: フローサイトメトリーによるFopx3発現 B: Fopx3⁺ Treg誘導率
 CD206陽性M2マクロファージ投与CGNマウスの脾臓、腎所属リンパ節でのFopx3⁺ Treg浸潤(C)とその定量的解析(D)

Figure 4

CD206⁺ M2型マクロファージの分化と培養



骨髓細胞あるいはiPS細胞由来CD206⁺ M2型マクロファージ投与による半月体形成性腎炎治療

3. 今後の展開

本研究において、CD206 陽性 M2 マクロファージ投与の CGN に対する有効性と、その治療効果メカニズムの一端が解明されました(Figure 4)。今まで、脾臓由来 M2 マクロファージ投与による腎障害改善効果の報告はありますが、細胞治療を行う際、脾臓は採取時の侵襲性が高く、現実的ではありません。今回、骨髓や iPS 細胞由来 M2 マクロファージが、重篤な糸球体腎炎に対し有効性を示したことは、侵襲性軽減の点からも、臨床応用に際し重要な意味をもちます。

研究チームでは、M2 マクロファージ治療が他の自己免疫性腎炎や炎症性疾患についても、CGN と同様の治療効果を果たすか検討するとともに、そのメカニズムの詳細についてもさらに研究を進める予定です。将来的には患者の骨髓、さらには採取時の生体侵襲がより少ない iPS 細胞由来の M2 マクロファージを用いた患者治療(自家移植)を目指します。

4. 用語説明

※1 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。

※2 シクロフォスファミド

アルキル化剤に分類される抗悪性腫瘍剤、免疫抑制剤。腎臓分野では難知性腎炎や自己免疫疾患に用いられる。

※3 IL-4 と IL-13

共に抗アレルギー作用を示すサイトカインの一種。気管支喘息などのアレルギー疾患を中心に解析が行われている。

※4 サイトカイン

免疫細胞から分泌されるタンパク質で、細胞間の情報伝達に関与する。多くの種類があるが特に免疫、炎症に関係したものが多い。

※5 免疫制御性 T 細胞(Treg)

免疫応答の抑制的制御（免疫寛容）を担う T 細胞の一種。過剰な免疫応答の抑制や、免疫の恒常性維持で重要な役割を果たす。

4. 発表雑誌

Du Q, Tsuboi N, Shi Y, Ito Y, Sugiyama Y, Furuhashi K, Endo N, Kim H, Katsuno T, Akiyama S, Matsuo S, Isobe K, Maruyama S. Transfusion of CD206⁺ M2 macrophages ameliorates antibody-mediated glomerulonephritis in mice. *The American Journal of Pathology* (米国東部時間 11 月 14 日付けの電子版に掲載)

English ver.

http://www.med.nagoya-u.ac.jp/english01/dbps_data/material/nu_medical/en/res/ResearchTopics/2016/macrophages_20161114en.pdf