

平成 29 年 3 月 8 日

ヒト乳歯歯髄幹細胞が分泌する新規 M2 マクロファージ誘導因子を用いた難治性肝疾患治療法の開発

名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長・高橋雅英）消化器内科学・伊藤隆徳（いとうたかのり）大学院生、石上雅敏（いしがみまさとし）講師、後藤秀実（ごとうひでみ）教授、顎顔面外科学／咀嚼障害制御学・日比英晴（ひびひではる）教授らの研究チームは、徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔組織学分野（平成 29. 4. 1 から「組織再生制御学」に名称変更予定）・山本朗仁（やまもとあきひと）教授との共同研究により、ヒト乳歯歯髄幹細胞の培養上清から見出した抗炎症・再生効果の主成分である単球走化性促進因子（MCP-1）、分泌型シアル酸認識レクチン（sSiglec-9）が、劇症肝炎ラットモデルにおいて優れた治療効果を有することを明らかにしました。

劇症肝炎は、短期間で高頻度に死に至る難治性疾患であります。その病態は複雑であり、病状が悪化した場合は肝移植以外に有効な治療法はないのが現状です。研究チームは、近年報告されている抗炎症・再生機能を持つ M2 型マクロファージに着目し、その誘導因子である MCP-1 と sSiglec-9 を、D-ガラクトサミン（D-Gal）誘発劇症肝炎ラットモデルに単回静脈内投与すると、肝障害が劇的に改善し、寛解に至ることを見出しました。更に、MCP-1 と sSiglec-9 は MCP-1 のレセプターである CCR2 を介して相乗的に治療効果を示しました。

本研究により、MCP-1 / sSiglec-9 投与による M2 型マクロファージ誘導効果は、劇症肝炎に対して新たな治療戦略となる可能性が示唆されました。

本研究成果は、英国雑誌「Scientific Reports」（英国時間 2017 年 3 月 8 日付けの電子版）に掲載されました。

ヒト乳歯髄幹細胞が分泌する新規 M2 マクロファージ誘導因子を用いた難治性肝疾患治療法の開発

ポイント

- ヒト間葉系幹細胞のひとつである乳歯髄幹細胞の細胞培養上清から見出した抗炎症・再生効果の主成分である単球走化性促進因子 (MCP-1) と可溶性シアル酸認識蛋白 (sSiglec-9) を、D-ガラクトサミン誘発ラット劇症肝炎モデルの発症後に単回投与すると、肝障害が著しく改善しました。
- MCP-1 と sSiglec-9 は相乗的に作用し、肝内マクロファージバランスを炎症性 M1 型から抗炎症性 M2 型へシフトさせることによって、アポトーシス (細胞死) を抑制し、損傷した肝臓を再生しました。
- MCP-1 / sSiglec-9 にて活性化した M2 型骨髄マクロファージは初代培養肝細胞のアポトーシスを抑制し、増殖を促しました。
- 本研究により MCP-1 / sSiglec-9 は難治性劇症肝炎の有望な治療薬となる可能性が示唆されました。

1. 背景

劇症肝炎は、肝炎ウイルス、薬物、自己免疫肝炎などの原因から、短期間で肝臓に広範な壊死が起こり、肝不全などの他臓器不全により死に至る極めて予後不良な疾患です。劇症肝炎に対しては、原因の検索・治療とともに血液浄化療法を含む対症療法を行います。病態が進行した場合は肝移植以外に治療法がないのが現状です。しかし、肝移植はドナー不足の問題もあり、劇症肝炎に対する代替治療法の開発が急務であると考えられます。近年、幹細胞や iPS 細胞等を用いた再生医学による劇症肝炎の治療が期待されていますが、倫理的な問題や移植細胞の安定性、拒絶の危険性などの諸問題が存在します。

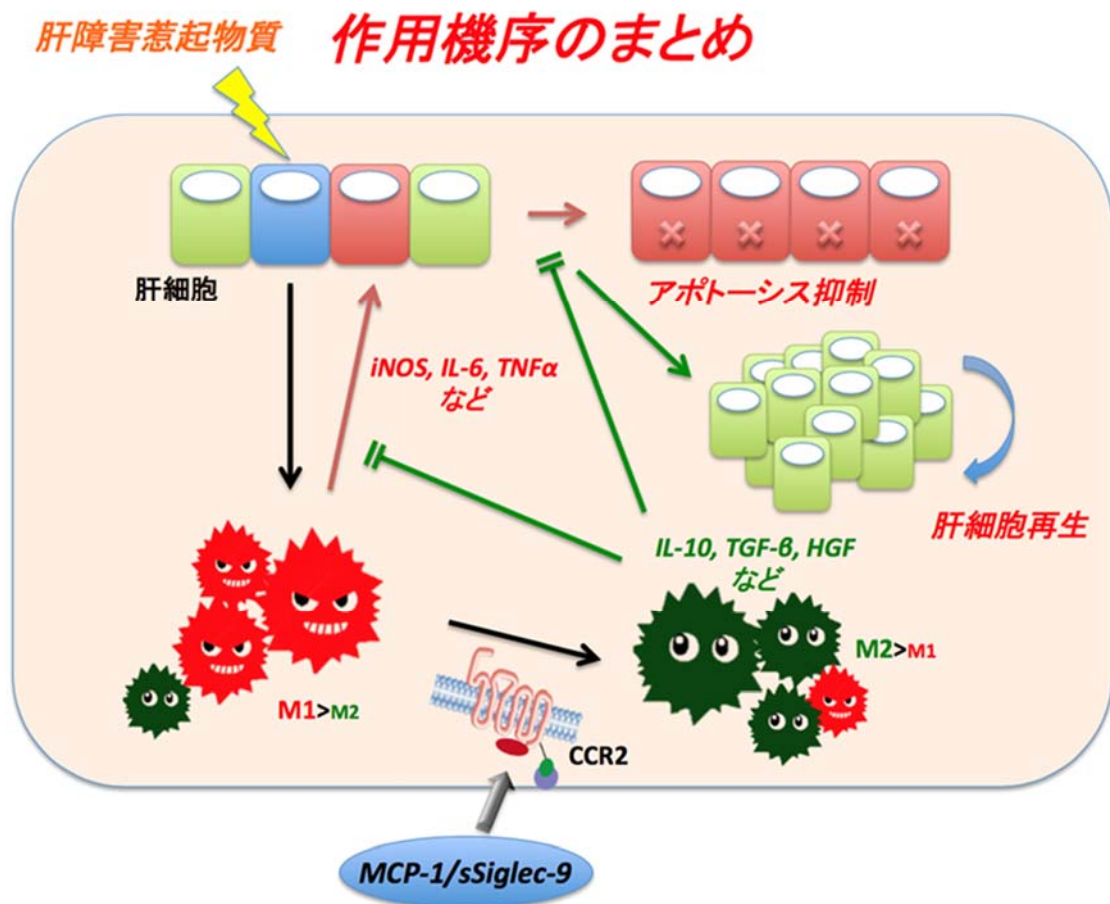
本研究チームは、2015 年、劇症肝炎ラットモデルに対して乳歯髄幹細胞の培養上清のみを投与することによる抗炎症作用・再生促進作用により、細胞移植をすることなく予後が回復することを報告しています。しかし、上清内に含まれる多数の液性因子群のうち、どの因子が治療効果に寄与しているかは不明のままです。研究チームは、歯髄幹細胞から見出した治療効果の中心となる MCP-1 / sSiglec-9 のみの蛋白投与による劇症肝炎治療法の開発を目指しました。

2. 研究成果

本研究チームは、国際的に汎用されている D-Gal 誘発劇症肝炎ラットモデルを用いました。本モデルでは、D-Gal 腹腔内投与後 4 日目までに多くのラットが肝不全のため死に至り、その生存率は 30% 程度です。D-Gal 投与後 24 時間で肝内の著明な炎症を確認したのちに、歯髄幹細胞培養上清の治療効果の中心成分である MCP-1 / sSiglec-9 を単回静脈内投与しました。すると肝障害が著しく改善し、生存率は 90% まで改善しました。リアルタイム PCR、蛍光免疫染色を用いた検討では、MCP-1 / sSiglec-9 治療は肝内マクロファージを炎症性 M1 型から抗炎症性 M2 型マクロファージへシフトさせることで、肝細胞のアポトーシスを抑制し肝再生を促進したと考えられました。更に *in vitro* において、MCP-1 /

sSiglec-9にて誘導したM2型骨髄マクロファージ培養上清が、初代培養肝細胞のアポトーシスによる細胞死を抑制し、増殖を促進しました。この効果は、古典的M2型マクロファージ誘導因子であるインターロイキン-4で誘導したM2型マクロファージ培養上清では認められませんでした。

生体の自己組織再生能力を引き出す新しいM2型マクロファージ誘導因子であるMCP-1とsSiglec-9は、劇症肝炎の有望な治療薬となり得る可能性が示唆されました。



3. 今後の展開

ヒト乳歯髄幹細胞の細胞培養液、およびMCP-1 / sSiglec-9の製剤化を目指し開発研究を継続します。さらに様々な消化器疾患への治療効果を検証します。

4. 用語説明

マクロファージ；大食細胞、貪食細胞とも呼ばれる免疫担当細胞の一種。主な機能として、生体内に侵入した異物を捉え、捕食し、その免疫情報をリンパ球に伝える。さらに、炎症性物質の産生により炎症反応を惹起する。近年、炎症促進型マクロファージ (M1型) に加え、抗炎症性・組織修復マクロファージ (M2型) の生理機能や疾患における多彩な機能が注目されている。

MCP-1 ; monocyte chemoattractant protein-1。炎症組織へマクロファージを誘導するケモカインの一種。

Siglec-9 ; Sialic acid-binding immunoglobulin-type lectins-9。様々な免疫系細胞表面に発現している膜型受容体の一つ。

5. 発表雑誌:

Takanori Ito, Masatoshi Ishigami, Yoshihiro Matsushita, Marina Hirata, Kohki Matsubara, Tetsuya Ishikawa, Hideharu Hibi, Minoru Ueda, Yoshiki Hirooka, Hidemi Goto, Akihito Yamamoto. Secreted Ectodomain of SIGLEC-9 and MCP-1 Synergistically Improve Acute Liver Failure in Rats by Altering Macrophage Polarity. *Scientific Reports* (英国時間2017年3月8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/ccr2_20170308en.pdf