

Human adipose tissue-derived stem cells inhibit coronary artery
vasculitis in a mouse model of Kawasaki disease

ヒト脂肪由来幹細胞が川崎病モデルマウスにおいて冠動脈の血管炎を
抑制する

日本医科大学大学院医学研究科 小児期・思春期医学分野

大学院生 福永遼平

Journal of Nippon medical school 第91巻 第2号(2024)

掲載予定

【背景】 川崎病は主に小児期に発症する原因不明の全身性血管炎であり、治療反応不良例は冠動脈瘤の形成がみられる。治療の主目的は早期に炎症を抑制し、冠動脈瘤の発生を予防することである。昨今の臨床では、免疫グロブリン製剤とアスピリンによる治療が初期標準治療として行われるが、治療反応不良例ではステロイドパルスや免疫抑制剤が使用される。それにも関わらず冠動脈瘤が生じてしまう症例があり、新規治療薬の研究がなされている。

脂肪組織由来間葉系幹細胞 (Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells :ADSCs) は、増殖が速く、抗炎症作用や組織修復作用が高いことから、様々な疾患の治療に用いられている。我々の施設で内村らが行った先行研究でマウス ADSCs が川崎病モデルマウスの血管炎の発生を抑制し、生存率をあげることが示されている。これらのことを踏まえて、本研究では、川崎病モデルマウスにヒト ADSCs (hADSCs) を投与することで、血管炎を抑制できるかを血清学および病理学的に検討し、また生存率の延長が認められるかどうかを検討した。

【方法】

本研究は、米国国立衛生研究所発行の「実験動物の飼育と使用の手引き」に従って実施し、実験プロトコルは、日本医科大学動物実験委員会の承認を得た (承認番号 2021-043)。

Candida albicans water-soluble fractions (CAWS) を DBA/2 マウスに連続した 5 日間腹腔内投与し、川崎病モデルマウスを作製した。モデルマウスには 8 日目に hADSCs または PBS を尾静脈内投与し 2 群に分類した。15 日目と 29 日目に採取した血清サンプルを用いてサイトカイン値を測定した。29 日目に採取したマウスの心臓を HE 染色し大動脈起始部や冠動脈周囲の炎症領域の面積、炎症細胞浸潤割合を調べ、また心血管恒常性に関与するタンパク質である Gal-1 と hADSCs の細胞表面マーカーである CD44 を用いて免疫組織学的染色を行った。また生存期間についても 2 群間で比較検討を行った。

【結果】 HE 染色検体を、ハイブリッド細胞カウントシステムを用いて行った解析では、炎症面積は PBS 群よりも hADSCs 群の方が小さく、炎症細胞浸潤の割合が優位に減少した ($P<0.01$)。具体的には、hADSCs 群 ($n=10$) の炎症面積は $1256 \mu\text{m}^2$ ($796\text{-}1621 \mu\text{m}^2$) であり、PBS 群 ($n=10$) のそれは $1466 \mu\text{m}^2$ ($1009\text{-}1782 \mu\text{m}^2$) であり、統計学的に有意差はなかった。炎症細胞浸潤の割合は hADSCs 群で 24 % ($12.8\text{-}32$ %)、PBS 群で 52.5 % ($42.5\text{-}59.2$ %) であり、有意差が認められた ($P<0.01$)。CD44 の発現はいずれの群でも観察されなかった。15 日目と 29 日目に採取した血清サンプルを用いてサイトカイン測定を行ったところ、IL-1 α は 15 日目に PBS 群と比較して hADSCs 群で有意に低下していた ($P<0.05$)。IL-6 は PBS 群で 15 日目と 29 日目の間に増加し、29 日目には hADSCs 群と PBS 群の間で IL-6 に有意差がみられた ($P<0.01$)。IL-1 β は両群間において 15 日目と 29 日目共に有意差は得られなかった。具体的には、hADSCs 群における IL-1 α の値は、15 日目に 38.95 pg/mL ($32.72\text{-}44.05 \text{ pg/mL}$)、29 日目に 12.88 pg/mL ($2.8\text{-}19.93 \text{ pg/mL}$) であった。PBS 群における IL-1 α の値は、15 日目に 56.02 pg/mL ($19.6\text{-}92.35 \text{ pg/mL}$)、29 日目に 19.19 pg/mL ($7.24\text{-}46.1 \text{ pg/mL}$) であった。hADSCs 群の IL-6 の値は 15 日目に 11.90 pg/mL ($7.61\text{-}20.58 \text{ pg/mL}$)、29 日目に 14.36 pg/mL ($10.72\text{-}20.89 \text{ pg/mL}$) であり、PBS 群の IL-6 の値は 15 日目に 17.08 pg/mL ($12.43\text{-}27.07 \text{ pg/mL}$)、29 日目に 37.64 pg/mL ($13.15\text{-}50.38 \text{ pg/mL}$) であった。hADSCs 群の IL-1 β の値は 15 日目に 2.05 pg/mL ($1.63\text{-}2.78 \text{ pg/mL}$)、29 日目に 2.12 pg/mL ($2.05\text{-}2.35$

pg/mL) であり、PBS 群の IL-18 の値は 15 日目に 2.8 pg/mL (1.93-3.24 pg/mL)、29 日目に 2.46 pg/mL (1.65-3.24 pg/mL) であった。生存期間の検討では、hADSCs 群は PBS 群より有意に生存期間が長いことが示された (P<0.05)。

【考察】 モデルマウスを用いたこれまでの研究では、hADSCs の免疫原性が低いことから、hADSCs をマウスに投与した場合にも薬理効果が期待できることが報告されている。今回の我々の研究の結果から、川崎病モデルマウスにおける hADSCs の投与は川崎病の治療の主目的である早期の炎症の鎮静化の達成に寄与することが病理学的にまた血清学的にも示された。特に炎症カスケードの上流である IL-1a を hADSC が PBS と比較して有意に抑制し、その結果として IL-6 の上昇も有意に抑えたことは好ましい結果であったと考える。Gal-1 はアラキドン酸放出の抑制に関与する糖脂質であり、Gal-1 の高発現は炎症の抑制に寄与することが示されている。今研究で示された川崎病モデルマウスにおける炎症部位での hADSCs 投与後の Gal-1 の高発現は、炎症部位で組織修復が起こっていることを示唆している。hADSCs は容易に作製でき、忍容性も高く、重症川崎病患者における将来の治療法として大きな可能性を秘めている。