

## マウス急性移植片対宿主病モデルに対する脱分化脂肪細胞移植の効果

村井健美<sup>1)</sup>, 石毛美夏<sup>1)</sup>, 風間智彦<sup>2)</sup>, 加野浩一郎<sup>3)</sup>,  
高橋昌里<sup>1)</sup>, 麦島秀雄<sup>4)</sup>, 松本太郎<sup>2)</sup>

## Effect of dedifferentiated fat cell transplantation in a mouse model of acute graft-versus-host disease

Takemi MURAI<sup>1)</sup>, Mika ISHIGE<sup>1)</sup>, Tomohiko KAZAMA<sup>2)</sup>, Koichiro KANO<sup>3)</sup>,  
Shori TAKAHASHI<sup>1)</sup>, Hideo MUGISHIMA<sup>4)</sup>, Taro MATSUMOTO<sup>2)</sup>

## 要旨

造血幹細胞移植において移植片対宿主病 (graft versus host disease: GVHD) はしばしば治療に難渋する重大な合併症である。近年、ステロイド抵抗性急性GVHDに対し、間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell: MSC) を用いた細胞治療の有効性が報告され、臨床応用が開始されている。脱分化脂肪細胞 (dedifferentiated fat cell: DFAT) は成熟脂肪細胞を天井培養することにより調製されるMSC様細胞である。本研究では、マウス急性GVHDモデルに対しDFATを経静脈的に投与し、その治療効果を評価した。その結果、DFAT投与により、GVHDに伴う体重減少が抑制され、GVHDの臨床スコアを有意に改善することが明らかになった。急性GVHDに対するDFATを用いた細胞治療の可能性が示唆された。

## 1. 背景および目的

造血幹細胞移植に伴う重大な合併症として移植片対宿主病 (graft versus host disease: GVHD) がある。レシピエントの抗原提示細胞によるドナーT細胞の活性化により、免疫拒絶が惹起されて起こる病態である。治療としてステロイドや免疫抑制剤投与が行われるが、しばしば治療に抵抗性を示し、重篤な場合は死に至る。薬物治療に抵抗性を示す急性GVHDに対して、近年、細胞治療が注目されており、間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cell: MSC) を用いた臨床応用が開始されている<sup>1)</sup>。Matsumotoら<sup>2)</sup>は、成熟脂肪細胞を天井培養という方法で培養することにより調製される脱分化脂肪細胞 (dedifferentiated fat cell: DFAT) が、高い増殖能とMSCに類似した多分化能を獲得することを明らかにした。DFATは

少量の脂肪組織より大量調製することが可能であることから実用性の高い細胞治療用ソースとして期待される。本研究では、マウス急性GVHDモデルにDFATを経静脈投与し、その治療効果を検討した。

## 2. 方法

MHC不一致の急性GVHDモデルは、Schroederらの既報<sup>3)</sup>に従い作成した。計30頭のマウスをControl群、GVHD群、GVHD+DFAT群の3群に分けた。Control群は、放射線照射後のレシピエントマウスにドナーマウス骨髄細胞を移植した。GVHD群は、放射線照射後のレシピエントマウスにドナーマウス骨髄細胞と脾臓CD3<sup>+</sup>細胞を同時移植した。GVHD+DFAT群は、放射線照射後のレシピエントマウスにドナーマウス骨髄細胞と脾臓CD3<sup>+</sup>細胞を

1) 日本大学医学部小児科科学系小児科学分野  
2) 日本大学医学部機能形態学系細胞再生・移植医学分野  
3) 日本大学生物資源科学部応用生物科学科  
4) 川越予防医療センター・クリニック  
松本太郎: matsumoto.taro@nihon-u.ac.jp

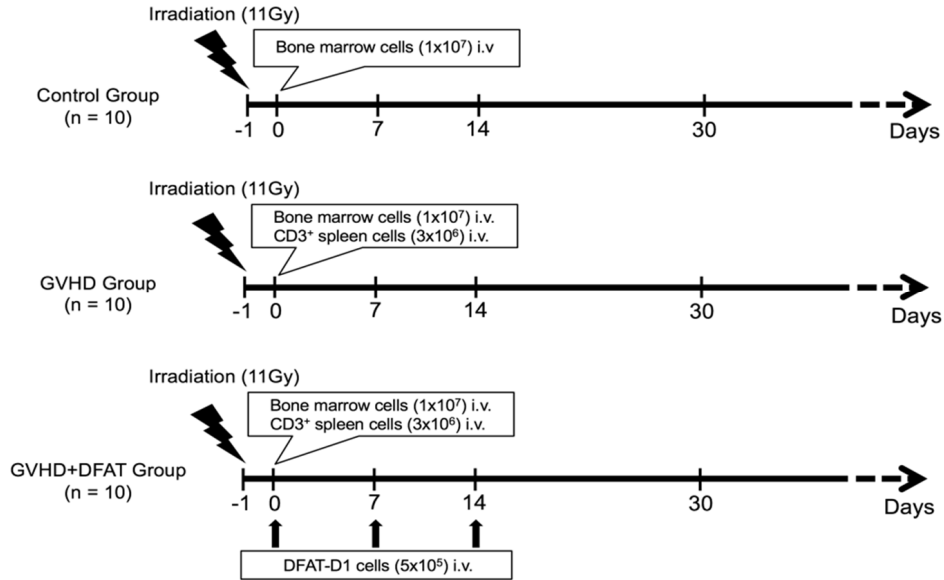


図1 実験プロトコール

同時移植し、マウスDFAT (5 x10<sup>5</sup>) を移植当日、7日後、14日後に尾静脈より投与した(図1)。各群の評価は、Kaplan-Meier 曲線による生存分析、体重の推移、GVHD 臨床スコア<sup>4)</sup>、移植21日後の大腸の組織学的検討にて行った。

### 3. 結果

各群の生存分析では、Control群は、移植後84日の観察期間中、死亡は10頭中2頭のみであった。GVHD群は、移植後20日目より死亡例が出現し、54日目には10頭全て死亡した。一方、GVHD+DFAT群は移植後24日目から死亡が認められたものの、84日目まで生存例が認められた。各群の体重推移の比較を図2に示す。GVHD群とGVHD+DFAT群はControl群に比べ、7日目より有意な体重低下を認めた。GVHD+DFAT群は全期間を通してGVHD群よりも体重減少が軽度であり、14、24日目の時点において両群間に有意差(p<0.05)を認めた。各群の臨床症状の比較では、移植21日以後GVHD+DFAT群はGVHD群に比べ、活動性の低下、亀背、脱毛の程度が弱い傾向があり、臨床スコアは有意に低下した。各群の大腸組織所見は、Control群がほぼ正常であったのに対し、GVHD群は腸管径の拡張、絨毛構造の破壊、著明な炎症性細胞の浸潤が認められた(図3)。一方、GVHD+DFAT群は炎症性細胞の浸潤は認めるものの、絨毛構造は比較的保持

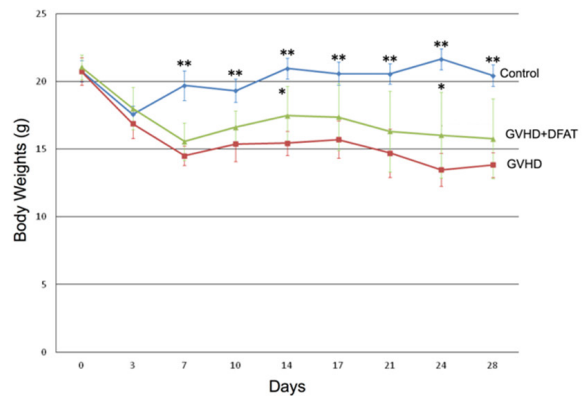


図2 各群の体重推移の比較  
(村井健美 他, 日大医学雑誌, 2017, 76 (4・5) :187-194より転載)

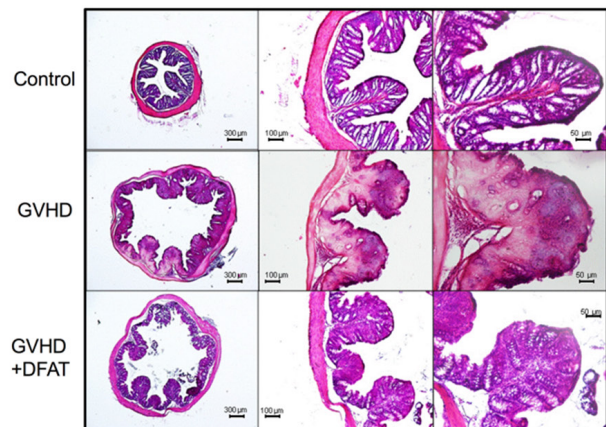


図3 各群の大腸組織像の比較

され腸管径の拡張も軽度であった。

#### 4. 考 察

本研究では、DFAT全身投与により急性GVHDが抑制できる可能性が示された。DFATはMSCと類似した液性因子の分泌プロファイルを示すことが報告されている<sup>5)</sup>。したがって、MSCで報告されているTGF- $\beta$ , HGF, NO, HLA-G, IDO-1といった免疫制御に関わる液性因子の分泌や、制御性T細胞の誘導促進作用を介して治療効果を示したと予想される。造血幹細胞移植後の急性GVHD患者では、骨髄MSCを採取することは困難であるため、同種他家MSC移植が行われている。DFATは少量の脂肪組織から低侵襲性に大量調製できることから、患者自身の細胞を用いた治療が可能となることが予想される。今後ヒトDFATを用いた前臨床試験を行い、有効性や安全性を検証することが望まれる。

#### 5. 結 語

マウス急性GVHDモデルに対しDFATを静脈内投与すると、GVHDに伴う臨床症状や病理所見を改善できることが明らかになった。急性GVHDに対するDFATを用いた新規細胞治療の可能性が示唆された。

#### 文 献

- 1) Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet* 2008;371:1579-1586.
- 2) Matsumoto T, Kano K, Kondo D, et al. Mature adipocyte-derived dedifferentiated fat cells exhibit multilineage potential. *J. Cell. Physiol.* 2008;215:210-222.
- 3) Schroeder MA, DiPersio JF. Mouse models of graft-versus-host disease: advances and limitations. *Dis. Model. Mech.* 2011;4:318-333.
- 4) Fukui J, Inaba M, Ueda Y, et al. Prevention of graft-versus-host disease by intra-bone marrow injection of donor T cells. *Stem Cells* 2007;25:1595-1601.
- 5) Kikuta S, Tanaka N, Kazama T, et al. Osteogenic effects of dedifferentiated fat cell transplantation in rabbit models of bone defect and ovariectomy-induced osteoporosis. *Tissue Eng Part A* 2013;19:1792-1802.