

γ線照射療法と間葉系幹細胞を使った抗原特異的な免疫抑制療法の確立

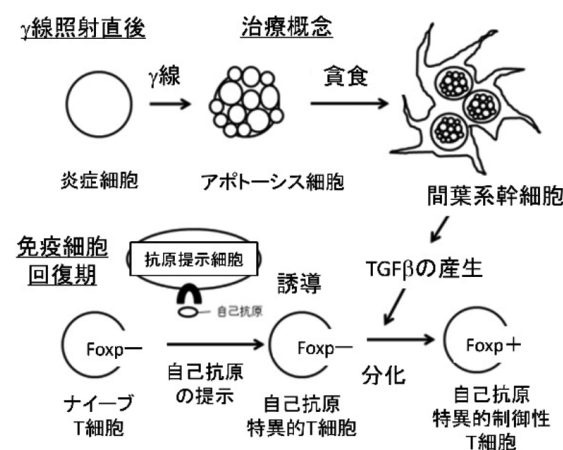
神戸大学医学部附属病院 特定助教 笠木 伸平



背景

間葉系幹細胞（Mesenchymal Stem cells, 以下MSCs）は将来的に、骨、筋肉、軟骨、脂肪、結合組織（間葉系とよばれる）などに変化する元となる細胞（幹細胞）である。MSCsは、主に、間葉系に分化するが、それ以外の系の細胞にも分化することから、再生医療の一旦を担うことが知られている。多くの難病指定を受けている自己免疫疾患（膠原病）は間葉系が免疫異常により障害される病気であり、MSCsの様々な免疫調整作用の報告が蓄積されていることもあり、MSCsの自己免疫疾患における臨床応用が期待されている。しかし、MSCsを使った治療の研究はいまだ報告が少なく、具体的な利用方法については今後の課題となっている。今回、難病医学研究財団より助成金をいただき、この臨床応用の方法を確立するため、研究に着手した。私のこれまでの研究で、免疫異常の原因となる（増殖能力も高い）活性化リンパ球にγ線で細胞死を誘導すると、リンパ球の死骸を食べるのを専門とする白血球（マクロファージ）に貪食され、マクロファージが大量のサイトカイン（ $TGF\beta$ ）を産生し、その後自己抗原を与えることで、自己免疫異常が改善することを発見し、研究を蓄積してきた。MSCsはマクロファージと比較して、リンパ球の死骸を食べる作用は弱い、免疫抑制作用や失われた結合組織に分化する作用などの特殊な作用を持つことから、MSCsの利点を最大限にかせる治療法を模索する。本研究では、リンパ球の細胞死を誘導するγ線照射とMSCsを組み合わせた治療法（マクロファージをMSCsに置換する）の臨床効果について検討を行った。（右上：図1）

図1



方法

*In vitro*の実験では、予めPMA+Ionomycinで活性化されたマウスのT細胞にγ線照射を照射した場合と照射しない場合それぞれにおいてMSCsと共培養を行い、培養上清中の $TGF\beta$ 濃度を測定した。*In vivo*の実験では、C57Bl6マウス（雌）に200Radのγ線照射を行い、引き続いて、マウスの血液内にMSCs（1,000,000個/個体）を投与した。γ線照射による細胞死といった影響からはほぼ回復する3週間後（実験開始0日目）に、マウスに実験的自己免疫性脳脊髄炎を誘導し、その後のマウスの脳脊髄炎の重症度を検討した。（1）γ線照射、（2）MSCs単独（3）併用療法（4）無治療の4つのグループに分けて検討

を行った。各群には10匹のマウスを用意し、実験的自己免疫性脳脊髄炎の神経症状に応じて5段階評価を毎日2人の検者で行い、10匹の5段階評価の平均をプロットした。

結 果

まず、 γ 線照射とMSCsを組み合わせた治療法が*In vitro*レベルでTGF β を産生するかどうかを検討するため、予めPMA+Ionomycinで活性化されたマウスのT細胞に γ 線照射を照射した場合と照射しない場合それぞれにおいてMSCsと共培養を行い、培養上清中のTGF β 濃度を測定した。その結果、T細胞に γ 線照射を照射するかしないかにかかわらず、MSCsと共培養によってTGF β 濃度の上昇を認めた。(右：図2) 次に、 γ 線照射とMSCsを組み合わせた治療法が実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症を抑えるのかどうかを検討するために(1) γ 線照射、(2) MSCs単独(3) 併用療法(4) 無治療の4つのグループに分けて検討を行った。興味深いことに(1) γ 線照射と(4) 無治療では脳脊髄炎の重症度においては差がなく、(2) MSCs単独と(3) 併用療法では前者よりも脳脊髄炎の重症度は低い傾向にあった。しかしながら、(2)と(3)の両者の間では、脳脊髄炎の重症度は大きな差を認めなかった。(1)と(4)には差を認めなかったことから、 γ 線照射により、細胞死することが実験結果に影響した可能性は少ないと考えられた。(2)と(3)には差を認めなかったこともまた、それを補足していると考えられる。一方で(2)と(3)がともに(1)と(4)よりも重症度が低いということは、機序は不明ではあるが、MSCsを大量に血液中に移入することで、脳脊髄炎の重症度は抑えられ、 γ 線照射との組み合わせではその抑制作用は増強されないと考えられた。(右上：図3)

図2

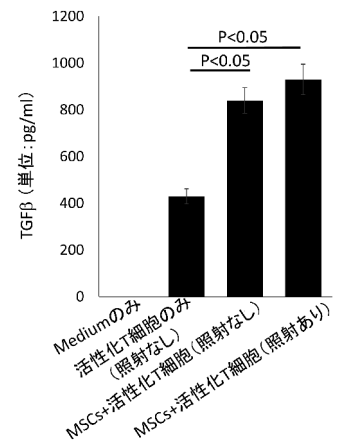
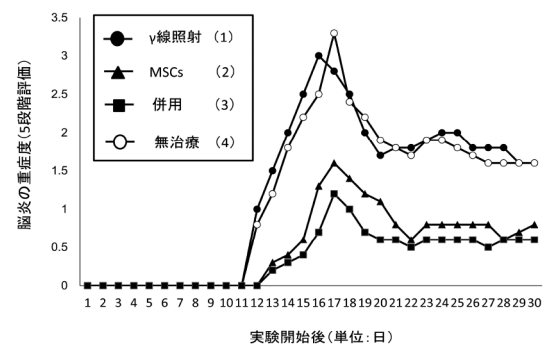


図3



考 察

以上のことから、活性化T細胞とMSCsを組み合わせにより、*In vitro*ではTGF β が産生されることが分かった。予想に反して γ 線照射により細胞死させるか否かは実験結果には影響を与えなかった。一方では実験的自己免疫性脳脊髄炎の実験系でも γ 線照射とMSCsの組み合わせは、MSCsの単独と比較して、抗炎症作用はほとんど差がなかったことから、 γ 線照射により細胞死を誘導させるかどうかは影響を与えないと考えられた。この理由としては、MSCsそのものが、活性化T細胞との相互作用を起こすことで、何等かの免疫学的な機序で免疫抑制作用を持つと考えられるが、それは、 γ 線照射による細胞死の誘導と直接関連がない可能性が示唆された。今後、引き続き、MSCsの臨床応用を目指した研究を継続していく予定である。最後に、本研究を遂行するにあたり、多大なるご支援を賜りました難病医学研究財団の関係者の方々に深く御礼申し上げたい。