

Title	Adipose Tissue-Derived Stem Cells Suppress Acute Cellular Rejection by TSG-6 and CD44 Interaction in Rat Kidney Transplantation
Author(s)	加藤, 大悟
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/50481
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	加藤 大悟
論文題名 Title	Adipose Tissue-Derived Stem Cells Suppress Acute Cellular Rejection by TSG-6 and CD44 Interaction in Rat Kidney Transplantation (ラット腎移植急性拒絶反応モデルにおける脂肪由来間葉系幹細胞による免疫調整効果およびその作用機序についての検討)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem Cells, MSC) は、<i>in vitro</i>においてT細胞の増殖抑制や樹状細胞の分化抑制などの免疫調整効果が示されている体性幹細胞である。特に脂肪組織由来であるAdipose Tissue-Derived Stem Cells (ADSCs)は骨髄組織と比較してグラム当たりの幹細胞数が多く、高い免疫調整効果を有するという特長を持つ。また比較的容易に採取可能であり、移植領域における臨床応用が期待される。しかし現在まで固形臓器移植モデルにおいてADSCsを含めたMSCの免疫調整効果及びその作用機序に関する報告はほとんどない。そこで今回我々はラット腎移植急性拒絶反応モデルを用いて、腎移植拒絶反応におけるADSCsの免疫調整効果及びその作用機序の検討を行った。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>方法:まずMixed Lymphocyte Reaction (MLR)により、ADSCsがレシピエントリンパ球増殖を抑制し得るかを検討した。次にラット腎移植急性拒絶反応モデルを作成し、2×10^6個のレシピエント系LEWラットより得たADSCsをドナー腎採取直前に腎動脈より動注した。移植後は生着率を検討するとともに、両群における移植腎の病理組織学的検討、RT-PCR法、ウェスタンブロット法によるサイトカイン発現を検討した。また作用機序としては、ADSCsの分泌するsoluble factorに着目し、その免疫調整効果を検討した。</p> <p>成績:MLRにおいてADSCsは用量依存性にリンパ球増殖を抑制した。またTrans-Wellを用いてリンパ球とADSCsの細胞間相互作用のない状態でMLRを行ったところ、やはりADSCsの用量依存性にリンパ球増殖を抑制したことから、ADSCsは細胞間相互作用に加え、サイトカインなどのsoluble factorの分泌によりリンパ球の増殖抑制効果を示していると考えられた。次にラット腎移植急性拒絶反応モデルでは、移植腎病理組織像において、間質への著明な炎症細胞浸潤を伴う対照群と比較し、ADSCs投与群ではこれらの所見は著明に改善し、$CD4^+$、$CD8^+$T細胞数も有意に減少した。これらを反映して、ADSCs投与により生着率は7.7 ± 1.3日と対照群 (6.6 ± 0.6日)と比較し有意に延長し、移植腎組織における炎症性サイトカインの発現も有意に抑制された。次にMLR/ADSCs共培養上清の検討により、免疫抑制効果を示すsoluble factorとして、抗炎症作用を持つTumor necrosis factor-inducible gene 6 protein (TSG-6)が有意に上昇していた。そこで移植腎組織中におけるTSG-6の発現をウェスタンブロット法により検討したところ、移植後3日目までADSCs投与群において、TSG-6の発現上昇を認めた。またGFPをラベルしたADSCsを本モデルに投与し、ADSCsの局在性を検討したところ、ADSCsは投与後3日目まで移植腎に存在した。以上から、ADSCsはTSG-6を分泌し、移植後早期のT細胞活性化や移植腎へのT細胞浸潤を抑制していると考えられた。</p> <p>次にTSG-6による免疫抑制作用機序の解明であるが、MLRにおいてrecombinant TSG-6(rTSG-6)を添加したところ、リンパ球増殖は有意に抑制されると同時に、T細胞における副刺激分子、接着分子であるCD44の発現が低下していた。そこでCD44中和抗体で前処理したMLRにおいてrTSG-6を添加したところ、rTSG-6によるリンパ球増殖抑制効果は有意に減少した。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>以上よりADSCsの分泌するTSG-6は、直接的あるいは間接的にT細胞上のCD44に作用し、移植後早期に移植腎におけるT細胞活性化や浸潤を抑制することで生着率を延長し得ることが示された。本作用機序によりADSCsは、移植腎機能の改善、移植腎生着率を延長し得ることが示され、今後免疫抑制薬の減量や拒絶反応治療といった臨床応用に繋がることが期待される。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 加藤 大悟		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 野々村 祝夫
	副 査	大阪大学教授 木村 正
	副 査	大阪大学教授 森井 真一
論文審査の結果の要旨		
<p>脂肪由来のMesenchymal Stem Cells (MSC)であるAdipose tissue derived stem cells (ADSCs)は比較的容易に採取可能であり、また高い免疫調整効果を有しており、臨床応用が期待される。そこで申請者は拒絶反応におけるADSCsの免疫調整効果及びその作用機序の解明を行った。</p> <p>ラット腎拒絶反応モデルを作成し、ADSCsを投与したところ、移植腎病理組織像において、著明な拒絶反応を示す対照群と比較し、ADSCs投与群では有意に改善した。これらを反映して、ADSCs投与により生着率は対照群と比較して有意に延長し、in vivoにおけるADSCsの免疫抑制効果が証明された。またMixed Lymphocyte Reaction (MLR)により、ADSCsは用量依存性にリンパ球増殖を抑制したため、ADSCsは細胞間相互作用に加え、soluble factorの分泌によりリンパ球の増殖抑制効果を示していると考えられた。そこでMLR/ADSCs共培養上清を解析したところ、免疫抑制効果を示すsoluble factorとして、Tumor necrosis factor-inducible gene 6 protein (TSG-6)の有意な上昇を認めた。また移植腎組織中におけるTSG-6の発現および移植腎におけるADSCsの局在性を検討し、ADSCsはTSG-6を分泌しつつ、移植後早期のT細胞活性化や移植腎へのT細胞浸潤を抑制していた。更にADSCsの分泌するTSG-6は、T細胞上のCD44に作用し、移植腎におけるT細胞活性化や浸潤を抑制した。本研究は、臓器移植モデルにおけるADSCsの免疫調整効果や作用機序を検討した初めての報告であり、今後の拒絶反応治療といった臨床応用に繋がることを期待される。したがって、審査の結果、上記の報告は学位に値するものと認める。</p>		