

## 骨髄間葉系幹細胞由来エクソソームを含む 新たな肺灌流・保存液の開発

### [1] 組織

代表者：兼平 雅彦

(山梨大学総合分析実験センター・資源開発分野)

対応者：岡田 克典

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 14 万 1 千円，英文校正費 9 千円

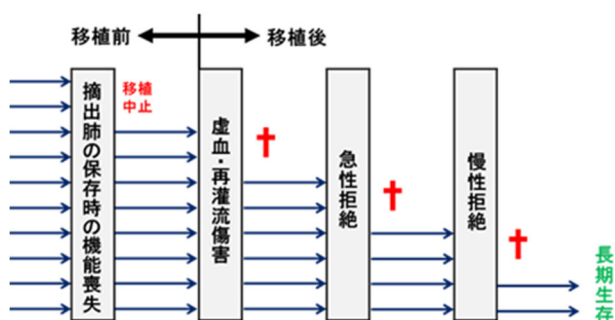
### [2] 研究経過

#### <研究の目的>

肺移植は、有効な治療法のない難治性肺疾患に対する最終的な治療法である。しかし、肺移植後の5年生存率は80%程度であり、他臓器の移植に比べて厳しいのが現状である。肺移植後の長期生存を目指すためには、

- ① 摘出肺の保存時の機能喪失
- ② 移植肺の虚血・再灌流傷害
- ③ 移植肺への急性拒絶反応
- ④ 移植肺への慢性拒絶反応

これらの4つのハードルを越える必要がある(下図)。

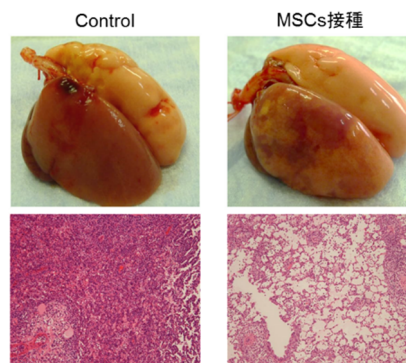


他の臓器移植に比べ、肺移植が困難である理由の1つに、肺が外界に曝露された臓器であるため、非常に精緻な免疫システムが備わっていることが挙げられる。肺移植後は、拒絶反応抑制のため、通常の臓器移植より多量の免疫抑制剤を長期間投与するが、このことが感染症のリスクを高めるといった問題がある。また逆に、過剰な免疫応答は移植肺の急性拒絶を誘導し、

たとえ回避できたとしても、慢性移植肺機能不全 (chronic lung allograft dysfunction ; CLAD) へ移行し、致命的になることが知られている。このことから、病原体や異物に対する免疫応答は残しつつ、移植肺に対する過剰な免疫応答のみを抑制することができれば、肺移植後の生存率は格段に上昇するものと思われる。

#### <研究の概要>

骨髄中には間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cells ; MSCs) と呼ばれる細胞が存在し、再生医療の分野で注目されている。一方で、一酸化窒素 (NO), PGE<sub>2</sub>, Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) 等の産生を介し、過剰な免疫反応を抑制することが報告され、現在は骨髄移植後の移植片対宿主反応 (GVHD) の治療などへ臨床応用が行われている。代表者らは近年、異系ラット間の肺移植実験において、MSCs の投与が拒絶反応を軽減できることを明らかにした (Ishibashi et al., Surg Today 2018) (下図)。



これらの結果から申請者は、MSCs が持つ強力な移植肺の組織保護作用、ならびに拒絶反応の抑制効果を利用した、従来にはない摘出肺の灌流・保存液の開発を着想した。

#### <研究の打ち合せ等>

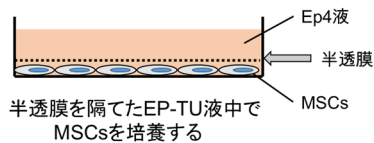
COVID-19 の流行時期と重なり、代表者の所属する大学より、不要不急の移動を控えるよう指示があった。そのため、Zoom を用いた Web 上での打ち合わせを 2020年7月2日の18時から、8月5日の18時からの計2回、それぞれ1時間程度行った。

### [3] 成果

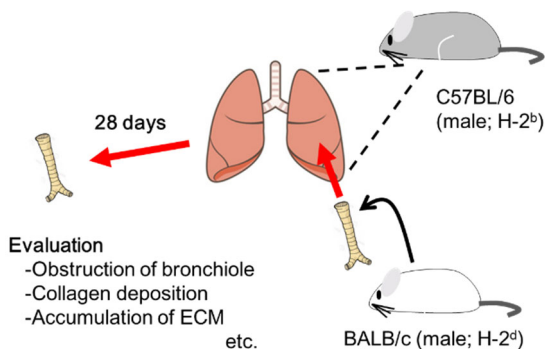
#### (3-1) 研究成果

まず第1に、MSCs 由来エクソソームを用いた実験を開始する前に、MSCs から分泌される細胞成分全体に移植片拒絶軽減効果があるかを検討した。

ベースとなる肺灌流・保存液として、東北大学加齢医学研究所呼吸器外科学分野により開発された EP-TU 液を用いた。具体的には、上層と下層を半透膜で隔てた特殊な培養フラスコを用い、EP-TU 液中（上層）で MSCs（下層）を数日間培養し、MSCs 由来成分を含む EP-TU 液（EP-TU/MSC 液）を調整した（下図）。

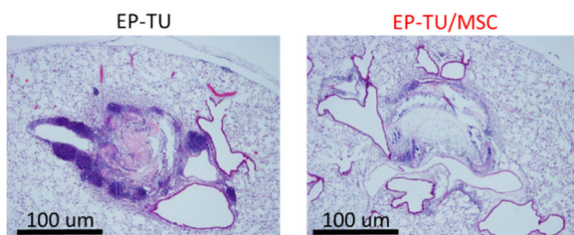


第2に、EP-TU/MSC 液による移植肺拒絶軽減効果を検討した。肺移植のマウスモデルとして、Donor (BALB/c マウス) より気管を摘出し、Recipient (C57BL/6 マウス) 肺内に移植する IPTT (Intrapulmonary tracheal transplantation) を用いた（下図）。



摘出した気管を EP-TU/MSC、もしくは通常の EP-TU (対照群) で4℃、24時間保存し、IPTT を実施した。24時間後、肺を摘出し、気管を移植した部位における炎症、ならびに気道の閉塞等を病理組織学的に評価した。

一部のマウスには、下図で認められたように、炎症細胞の浸潤の軽減、ならびに気道内の閉塞の改善が認められたが、統計学的な有意差は認められなかった。



これらの結果から、MSC 由来細胞成分から有効な分画のみを抽出する方法（限外濾過、遠心分離等）の更なる検討が必要であると思われた。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

MSCs は、骨髄のみならず脂肪組織や歯髄からも採取でき、かつ大量培養が可能であることから、iPS 細胞と並んで臨床応用が期待されている。同様に、エクソソームは、クロマトグラフィーや超遠心により調整でき、冷凍による長期保存が可能である。また、拒絶反応の問題もないことから、病気の治療や診断のツールとして注目を浴びている。

これまで、MSCs を直接投与する細胞治療の臨床応用は行われてきたが、HLA ミスマッチによる拒絶反応や肺塞栓等の問題があった。本課題は、MSCs 由来のエクソソームに注目しており、これらの問題を回避できると考えられる。今後、MSCs 由来エクソソームを用いた新たな肺保存液が開発されることにより、肺移植における移植片拒絶反応が軽減され、さらには、致死的となる慢性移植肺機能不全 (CLAD) への移行も抑えられ、肺移植後の生存率を大いに向上させる大きな原動力になるものと思われる。

### [4] 成果資料

該当なし。