



2017年7月13日

東北大学大学院医学系研究科  
日本大学医学部

## Muse 細胞の点滴による慢性腎臓病の新しい治療法の可能性 - 組織修復と機能回復をもたらす修復治療を目指して -

### 【発表のポイント】

- ヒト骨髄由来 Muse 細胞の静脈投与によって、慢性腎臓病モデルマウスの腎機能障害を回復させることができた。
- 腎臓の修復に重要な、糸球体硬化の抑制、線維化の抑制、細胞死の抑制が認められた。
- 慢性腎臓病を Muse 細胞の点滴投与で治療できる可能性が示唆された。

### 【概要】

Muse 細胞は腫瘍性を持たない生体由来多能性幹細胞です。静脈投与で傷害組織に集積し、その組織に応じた細胞に自発的に分化することで組織を修復することが知られています。今回、東北大学大学院医学系研究科細胞組織学分野の出澤 真理（でざわ まり）教授の研究グループは、日本大学医学部およびカリフォルニア大学ロサンゼルス校の研究グループと共同で、ヒト Muse 細胞を慢性腎臓病モデルマウスに静脈投与すると、腎組織が修復され腎機能が回復することを明らかにしました。ヒト細胞を拒絶しない免疫不全マウスにおいて薬剤投与によって慢性腎臓病モデルを作成し、ヒト骨髄由来の Muse 細胞を静脈投与したところ、傷害を受けた腎臓の濾過器官（糸球体）に選択的に生着し、自発的に糸球体を構成する細胞として分化しました。糸球体構成細胞に分化した Muse 細胞は投与後 7 週においても腎臓内で生存し、腎機能を改善しました。一方、免疫機能が正常なマウスモデルで免疫抑制剤を投与せずに同様の実験を行ったところ、ヒト Muse 細胞は 5 週までは分化・生存し、顕著な腎機能の回復を示しましたが、7 週間になると排除され、腎機能も悪化したことから、Muse 細胞が糸球体構成細胞として生着していることが腎機能回復に直接寄与していることが示されました。これらの結果から、Muse 細胞の点滴投与で慢性腎臓病を修復再生できること、またドナーの Muse 細胞が長期間にわたってレシピエントの体内に残り、回復効果をもたらす可能性が示唆されました。

本研究成果は、日本時間 2017 年 7 月 4 日に *Journal of the American Society of Nephrology* 誌のオンラインで発表されました。

また本研究は、文部科学省科学研究費補助金 基盤研究 B の支援を受けて行われました。

## 1. 背景

腎臓病は腎臓の濾過器官である糸球体や再吸収などに関わる尿細管（図 1）が機能しなくなることによって体内の老廃物が排出できなくなり、身体の恒常性維持や時に生命維持に重篤な影響をきたす疾患です。腎機能が失われると回復が難しい場合が多く、慢性化することが知られています。

慢性腎臓病において傷害された腎組織を再生させる治療法はこれまでなく、蛋白尿・電解質異常・高血圧・貧血などの合併症を軽減する薬物療法が行われています。しかし、腎機能が著しく低下した場合には、透析などの腎機能の代替治療を受ける必要があります。現在、本邦の透析患者数は 30 万人以上で、患者の負担や医療費の増大が問題となっています。根本的な治療である腎移植は、日本でもすでに 2 万人以上の方が受けていますが、臓器供給の問題があり、すべての患者を治療することは難しい状況です。

腎臓病には多様な種類があり、原因や症状がそれぞれ異なります。今回我々は慢性腎臓病の病態を示す代表的な疾患である巣状分節性糸球体硬化症 focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) <sup>注1</sup> に注目し、薬剤（アドリアマイシン<sup>注2</sup>）投与によって作成した FSGS モデルマウスを使用して、ヒト Muse 細胞による治療効果を検証しました。FSGS では、血液中の老廃物を濾過し、尿を作る器官である糸球体が特に強く傷害されます。糸球体は、糸球体内の血管を構成する血管内皮細胞（endothelial cells）、血管をまとめ糸球体を支持するメサンギウム細胞（mesangial cells）、これら 2 種の細胞を外側から覆い血液から老廃物を濾過する機能を持つ足細胞（podocyte）の 3 種類の細胞から構成されます（図 2）。FSGS ではこれら 3 種類とも傷害されることで糸球体機能が低下し、腎不全に陥ります。FSGS を根本的に治療するには、傷害された 3 種類の細胞とも修復・補充されなくてはなりません。本研究では、静脈投与された Muse 細胞によって、これらの細胞の修復・補充が可能であるか検証しました。

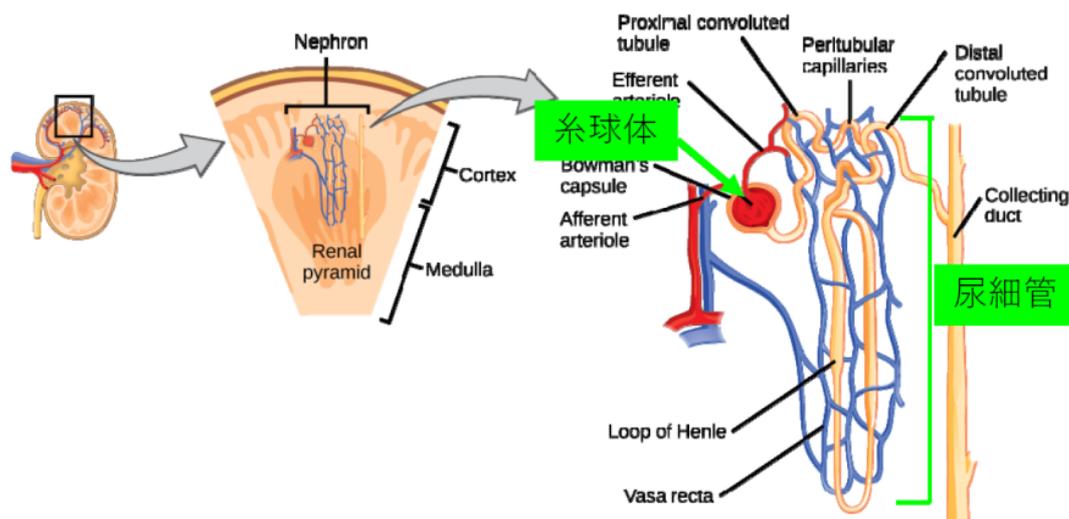


図 1. 腎臓の構造

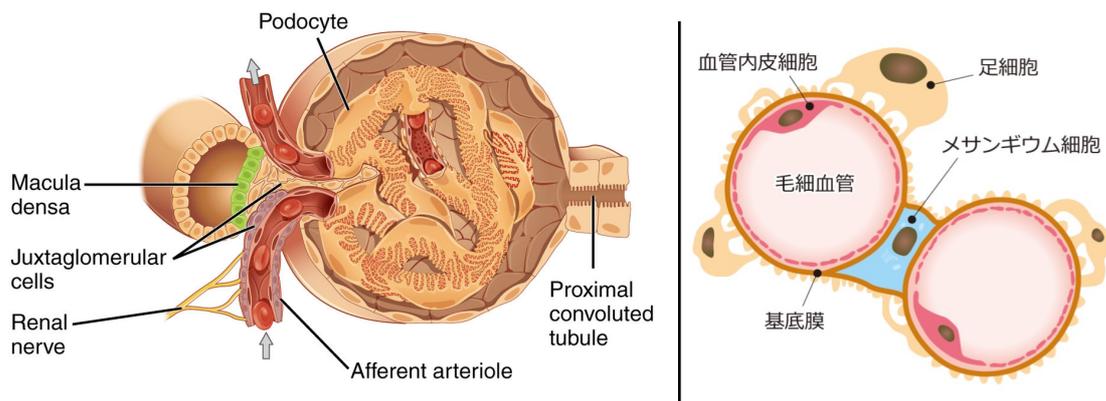


図 2. 糸球体の構造

## 2. 研究手法

Muse 細胞の治療効果を検証するにあたり、二つのマウスモデルを使用しました (図 3)。一つはヒト細胞を拒絶しない免疫不全の SCID マウス、もう一つは正常な免疫機能を有する通常の BALB/c マウスです。これらのマウスにアドリアマイシンを投与して慢性腎臓病モデルを作成し、ヒト骨髄由来 Muse 細胞を尾の静脈から投与しました。投与した Muse 細胞数はわずかに 2 万細胞 です。ちなみに、マウス腎臓病モデルへの細胞移植実験で用いられる間葉系幹細胞では、通常数百万もの細胞が投与されますので、本研究にて用いられた細胞数は特筆されるべき少なさです。

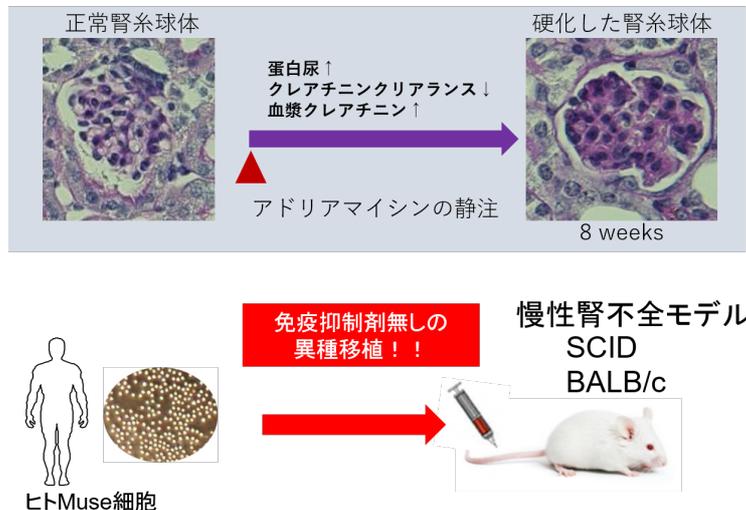


図 3. FSGS モデルマウスを使用した Muse 細胞投与による腎機能回復の検討

〈二本立てで実験した理由〉

FSGS の病態は腎臓における炎症反応によって生じます。ところが、免疫不全の SCID マウスでは炎症反応が非常に弱いので、アドリアマイシンを投与しても不完全な腎機能低下にしかなりません。そのため、Muse 細胞による腎機能の回復については、効果があきりと検証できません。一方、ヒト細胞を拒絶しないので腎臓におけるヒト Muse 細胞の集積とその後の糸球体細胞に分化につい

ては十分な検証が可能です。

一方、通常の免疫機能を持つ BALB/c マウスでは炎症反応が起きますので、アドリアマイシン投与後腎機能が十分に低下し、明らかな慢性腎臓病モデルが作製できます。ここに Muse 細胞を投与すれば、機能回復について十分に検証することができます。ヒト Muse 細胞は異種細胞ですので、通常は正常な免疫機能を持つマウスに投与すると速やかに免疫拒絶によって排除されるはずですが、これまでの研究から Muse 細胞には免疫機能を調節し、免疫拒絶を逃れる能力があることが示唆されています。もし本研究においても Muse 細胞の免疫調節機能が発揮されるのであれば、通常の免疫機能を持つ BALB/c マウスにおいても Muse 細胞は免疫拒絶されることがなく、糸球体の修復と機能回復が見られると考えられます。

### 3. 実験結果

〈ヒト細胞を拒絶しない SCID マウスでの検証〉

- 1) 静脈投与されたヒト Muse 細胞は、腎臓の特に糸球体が存在する皮質 (Cortex) に選択的に集積していました。しかも投与後 7 週間後でも多くの細胞が残存していました (図 4)。一方他の臓器にはほとんど検出されないことから、静脈投与によって傷害組織へ選択的に集積する能力があることがわかります。

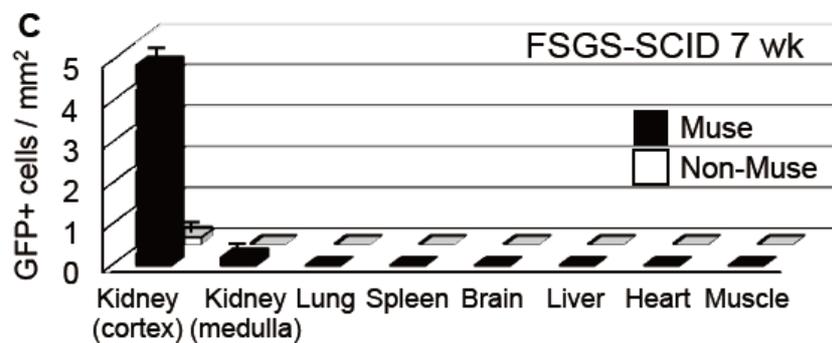


図 4. SCID マウス FSGS モデルでの生体内 Muse 細胞分布 (静脈投与 7 週間後)

2) 静脈投与されたヒト Muse 細胞は腎臓に生着した後、糸球体を構成する 3 種類の細胞に自発的に分化していました (図 5 ; 7 週間後)。

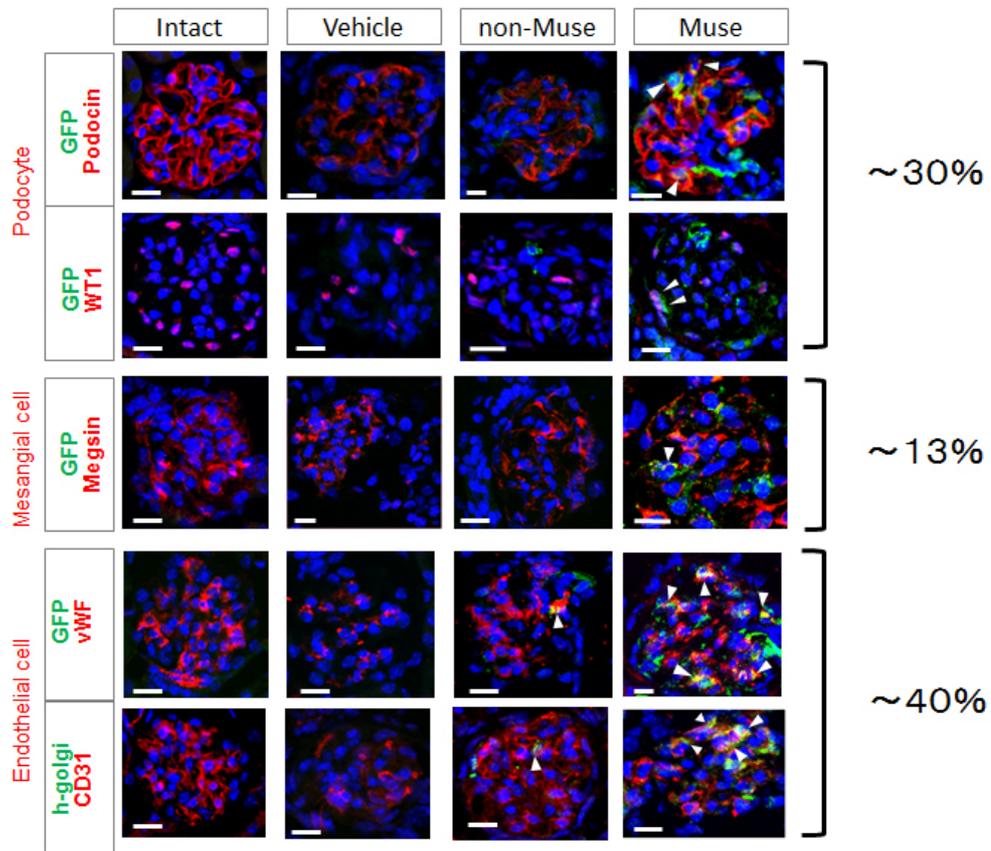
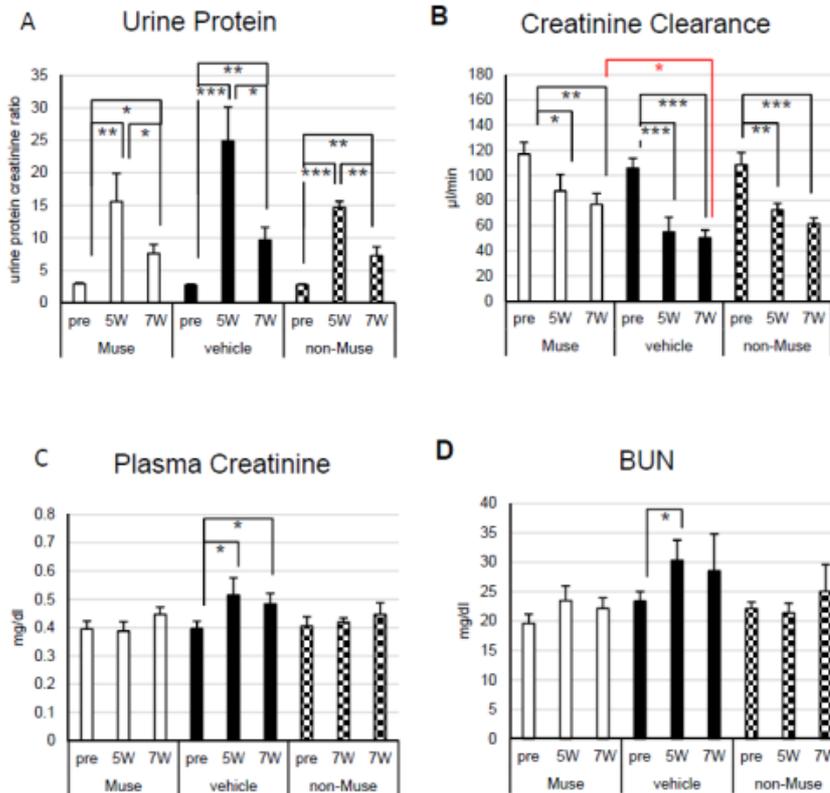


図 5. SCID マウス FSGS モデルでの Muse 細胞の糸球体細胞への分化 (静脈投与 7 週間後)

- 3) 免疫不全である SCID マウスでは機能低下は不完全ではあるものの、Muse 細胞投与群では老廃物を濾過する機能に関して統計的に有意な回復が確認されました (図 6)。腎機能は、尿蛋白 (Urine protein)<sup>注3</sup>、クレアチニンクリアランス (Creatinine clearance)<sup>注4</sup>、血漿中クレアチニン (Plasma creatinine)<sup>注5</sup>、尿素窒素 (BUN)<sup>注6</sup> で評価しました。



Creatinine Clearance は老廃物を排出する能力を反映し、高いと機能が良いことを示します。コントロール(vehicle)群では腎不全前の Pre に比較し、腎不全後生理食塩水を投与されてから 5 週、7 週では機能が下がっています。しかし Muse 細胞が投与された群ではその低下が抑えられ、7 週では統計的有意差をもって Muse 群の方が高いことがわかります。(赤の\*印)

図 6. SCID マウス FSGS モデルへの静脈投与後の腎機能評価

〈正常な免疫機能を持つ BALB/c マウスでの検証〉

- 1) ヒト Muse 細胞は糸球体構成細胞に自発的に分化していました。免疫抑制剤が投与されなくても、 静脈投与 5 週間後までは分化したヒト Muse 細胞の存在が確認されました (図 7)。

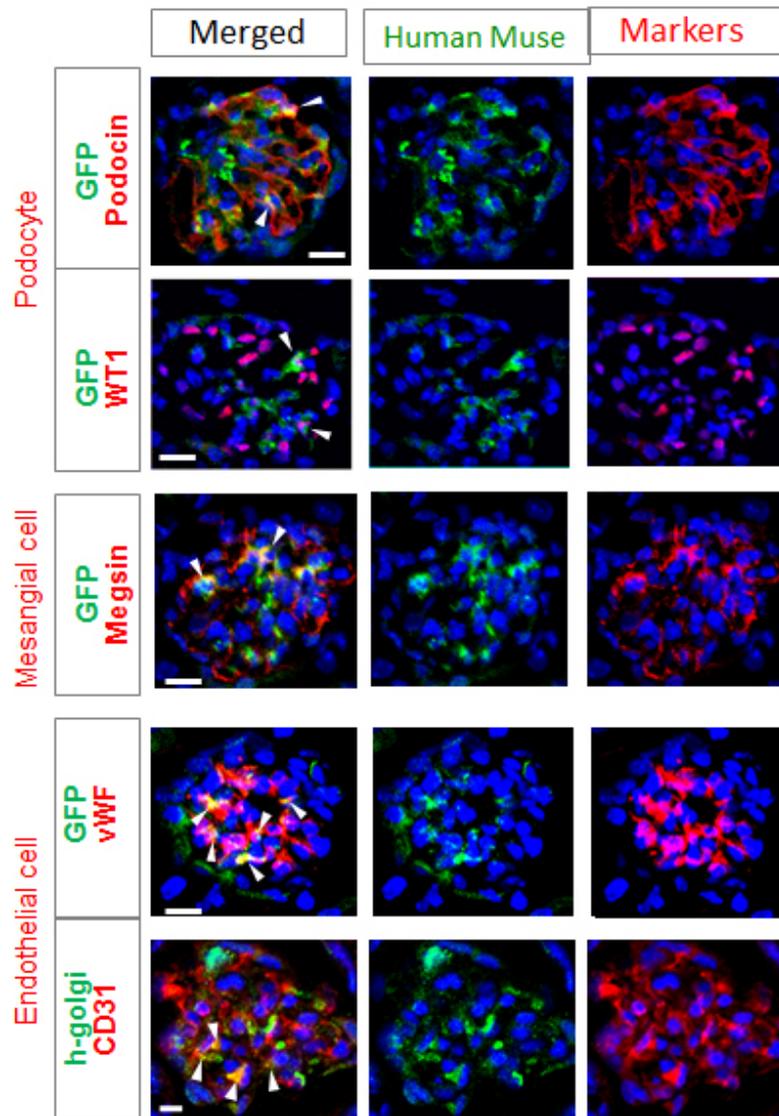


図 7. BALB/c マウス FSGS モデルでの Muse 細胞の糸球体細胞への分化 (静脈投与 5 週間後)

- 2) 静脈投与 5 週間後以降、生着・分化したヒト Muse 細胞が排除されていく様子が観察されました (図 8)。

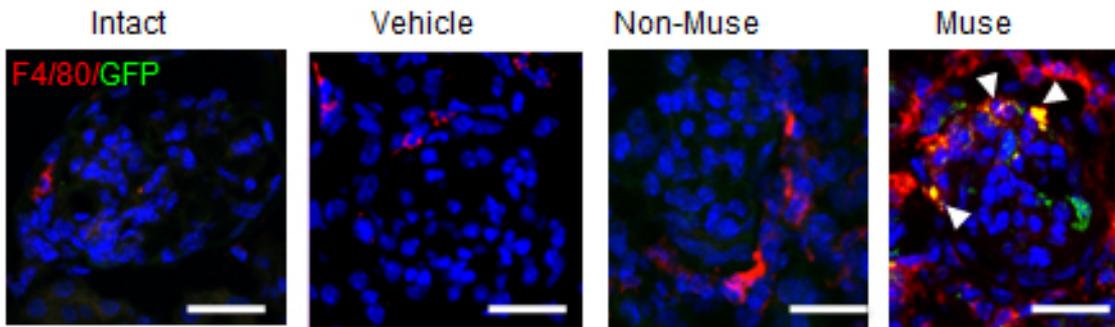


図 8. BALB/c マウス FSGS モデルへの静脈投与 5 週間後以降のヒト Muse 細胞のマクロファージによる排除

- 3) ヒト Muse 細胞投与群では、静脈投与 5 週間後までは正常範囲内までの腎機能回復が認められました。この腎機能回復は、他群と比較して統計学的に有意なものでした。ところが 7 週間後には、他群との統計学的有意差が認められない程度に腎機能が悪化しました。この理由は、免疫抑制剤を投与していないために異種のヒト Muse 細胞がマウスの体内で免疫拒絶されたからであることが判明しています (次項にて改めて説明しています)。Muse 細胞が存在しなくなったため腎機能が悪化したということは、すなわち、本研究で観察された腎機能回復において真に重要なことは、「Muse 細胞が腎臓に生着し、糸球体細胞に分化し、機能したこと」であったと言えるでしょう。

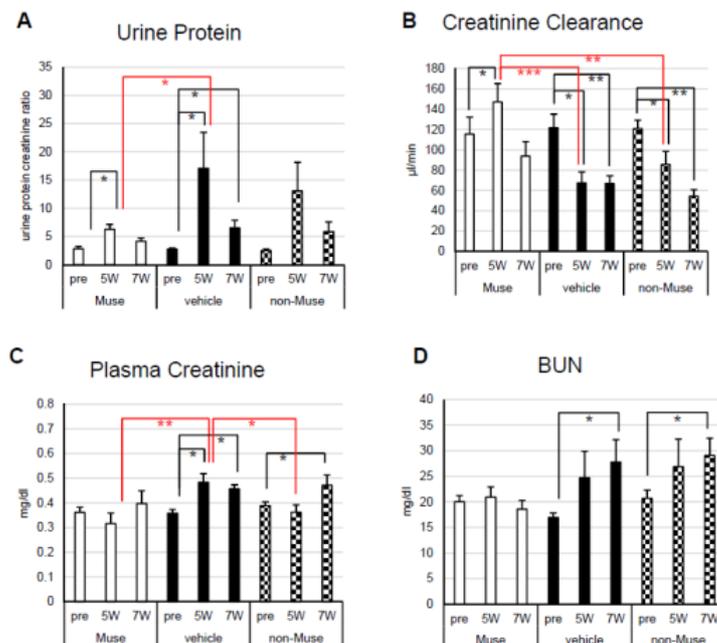


図 9. BALB/c マウス FSGS モデルへの静脈投与後の腎機能評価

〈Muse 細胞には腎臓の糸球体硬化、線維化、細胞死を抑制する効果も存在する〉

- 1) Muse 細胞投与群では、糸球体硬化率 (Glomerular Sclerosis) が顕著に改善されていました (図 10)。また腎臓の線維化 (Fibrotic area) も大幅に抑制されていました。

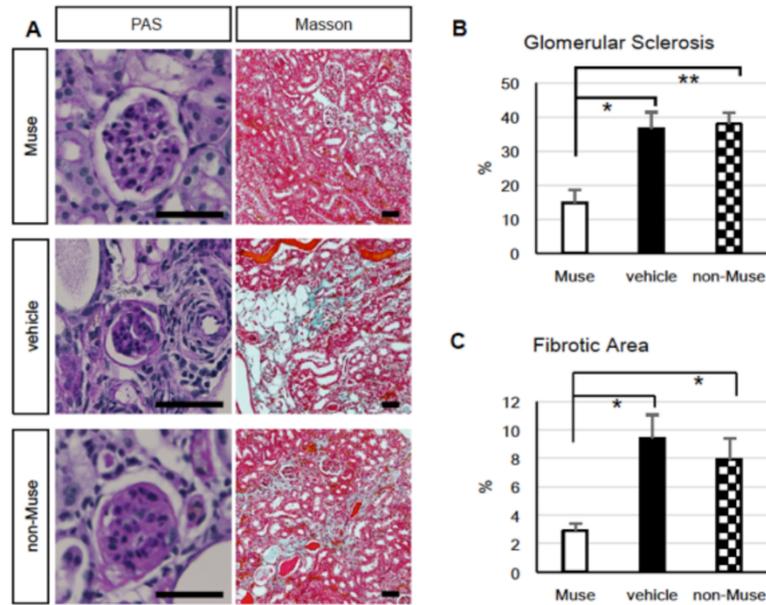


図 10. BALB/c マウス FSGS モデルへの静脈投与後の糸球体硬化率と線維化面積の評価

- 2) 糸球体細胞の細胞死を抑制する効果も確認されました (図 11)。

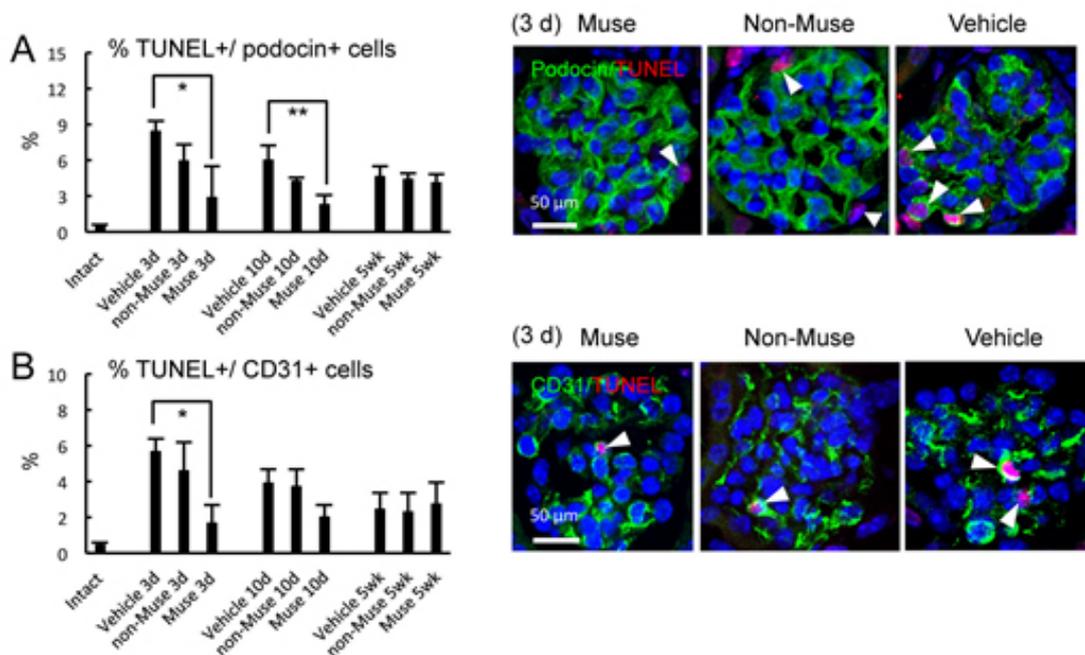


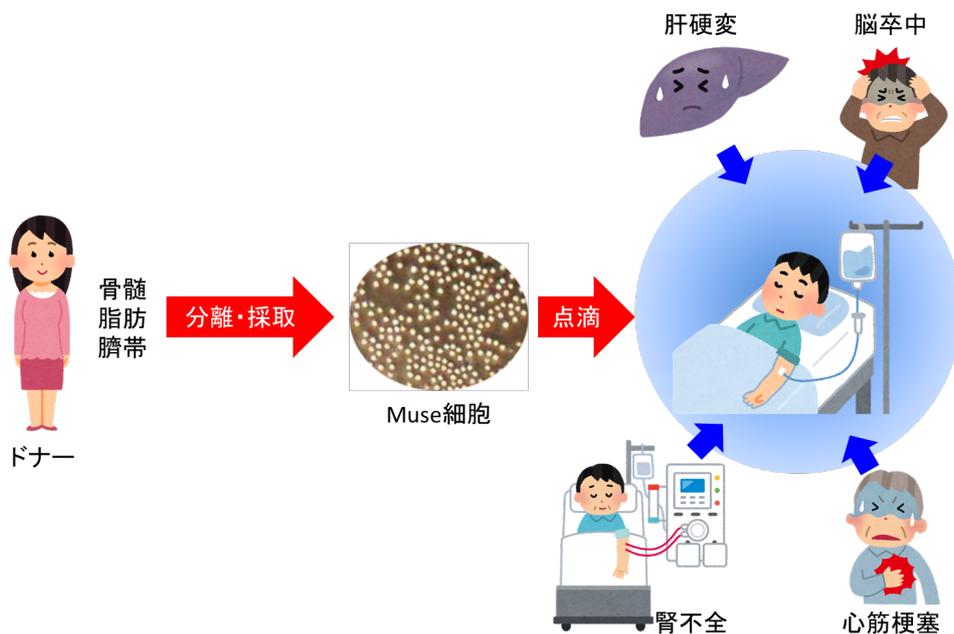
図 11. BALB/c マウス FSGS モデルへの静脈投与後の糸球体細胞の死細胞率比較  
【考察】

本実験によって以下の事が示唆されました。

- ヒト Muse 細胞は慢性腎臓病マウスモデルへ静脈投与されると腎臓に選択的に集積・生着し、糸球体の細胞へと自発的に分化する
- 生着・分化した Muse 細胞が糸球体の細胞として機能するが、腎機能回復に重要である
- Muse 細胞は糸球体硬化や腎臓の線維化、細胞死も抑制する
- ヒトの Muse 細胞は免疫抑制剤がなくとも、少なくとも 5 週までの間はマウスの腎臓の中で糸球体の細胞として分化・生存し、しかも腎機能の回復に貢献する
- このことは患者自身の Muse 細胞ではなく、健常者ドナーの Muse 細胞を使う他家移植において重要な意味を持ち、他家移植では異種移植に比べ免疫拒絶が弱いので Muse 細胞の分化・生着による腎機能の改善が長期に渡って期待できる

【この研究の示す可能性】

点滴投与で再生医療が可能ならば、一般病院でも十分に普及可能



我々の体は日々微細な修復がなされているため、組織が維持され恒常性も保たれています。これはごく当たり前のようには思われていますが、その機構はよくわかっていません。

Muse 細胞は発見当初、骨髓や皮膚に存在する腫瘍化の可能性がほとんどない多能性幹細胞として位置付けられました。安全性の懸念が低く、アクセスしやすい組織から採取でき、多様な細胞に分化する多能性を持つことから、再生医療へ

の実用化が期待される細胞と認識されてきました。ところが国内外で研究が進むうちに、この細胞の本当の重要性が明らかになってきました。それは、我々の体の修復を日々行っている「生体内修復幹細胞」としての可能性です。

Muse 細胞は骨髄から血液に少しずつ動員され、個人差はあるものの一定の割合で血液中を巡り、各臓器に供給されます。供給先の組織で細胞の脱落が起きた場合、Muse 細胞は「場の論理」に応じた分化を行うことによって機能的細胞を補い、様々な臓器の修復を行っています。実際、脳梗塞患者では、発症後 24 時間の末梢血中の Muse 細胞数が平常時の数十倍にも増加します。しかし、基礎疾患があって Muse 細胞の活性が落ちていたり、動員数が足りない場合には、自前の Muse 細胞だけでは修復は追いつきません。ここに再生医療として健常なドナーから採取した Muse 細胞を補充する意味があります。

Muse 細胞は傷害組織から出される警報シグナルに対する受容体を持つ特殊な幹細胞です。従って、静脈に投与すると何処が傷害部位かを認識することができ、集積します。そして、組織に応じた細胞に自発的に分化をし、最終的に組織の一員となって組み込まれ、修復をします。今回これらの機能が腎不全モデルにおいて示されました。また、免疫調整作用を持つために、他者の細胞を投与しても免疫拒絶を免れます。従って、ドナー細胞の活用が可能です。これらの特性から、Muse 細胞は「点滴による再生医療」を可能とするものと考えています。再生医療には「夢はあるがコストと時間がかかるハードルの高い医療」というイメージがありますが、点滴で再生医療が可能になればどうでしょうか。一般普及をすることができますし、さらには現在の医療を大きく変えることができます。何より、生体に備わる修復機構を最大限に活用する医療は安全性に優れ、「自然の理に叶った」治療を可能とします。自然の理にかなった細胞はうまく生体に適合できるでしょう。こうした、「修復医療」という全く新しい次世代の治療概念を提示します。

## 【用語】

- 注1. 巣状分節性糸球体硬化症 (FSGS) : 血液をろ過して尿 (原尿) を産生する糸球体が分節状に傷害 (硬化) する予後不良の腎疾患で、尿蛋白が高くなり、ステロイドなどの治療薬に抵抗性を示す。原因不明の一次性 FSGS や、遺伝子変異・感染性・薬剤性などの様々な二次性 FSGS がある。
- 注2. アドリアマイシン (Adriamycin) : ドキソルビシン Doxorubicin とも呼ばれる抗がん剤のひとつ。腫瘍細胞の DNA や RNA の生合成を抑制することにより抗がん作用を示す。マウスでは、大量投与によりアドリアマイシン腎症と呼ばれる巣状糸球体硬化症を起こし、重要な疾患モデルとなっている。
- 注3. 尿蛋白 (Urine protein) : 血液中のアルブミンやグロブリンなどのタンパク質は、腎糸球体で血液が濾過されても血液中にとどまるが、糸球体が傷害されると尿に出現するため、蛋白尿は腎障害の指標のひとつとして用いられる。
- 注4. クレアチニンクリアランス (Creatinine clearance) : クレアチニンは糸球体から尿に濾過されるとそのまますべてが体外に排泄される。クレアチニンクリアランスは、クレアチニンのこの性質を利用して糸球体での尿の濾過速度 (糸球体濾過量) を測定する検査である。腎機能の低下と最も相関するのは糸球体濾過量の減少であり、クレアチニンクリアランスは最も重要な腎機能評価法のひとつである。
- 注5. 血漿中クレアチニン (Plasma creatinine) : クレアチニンは全身の筋肉で利用されるアミノ酸の一種クレアチンの老廃物である。毎日ほぼ一定の量が筋肉から出て、腎臓から体外に排泄されている。腎機能が低下すると腎臓からの排泄量が少なくなるため、血液中のクレアチニン濃度が上がる。腎機能の重要な指標である。
- 注6. 尿素窒素 (BUN) : 体内では、摂取されたタンパク質はアミノ酸となり、その分解産物の窒素成分は最終的に尿素となって尿に排泄される。このため血液中の尿素は腎機能が低下すると体外に排泄できずその濃度が高くなり、腎機能の指標のひとつとなる。クレアチニンと比較して、栄養状態や脱水などで血中濃度が変化しやすいため、腎機能の指標としてはクレアチニンに劣る。

**【論文題目】**

Title: Beneficial Effects of Systemically Administered Human Muse Cells in Adriamycin Nephropathy

Authors: Nao Uchida, Yoshihiro Kushida, Masaaki Kitada, Shohei Wakao, Naonori Kumagai, Yasumasa Kuroda, Yoshiaki Kondo, Yukari Hirohara, Shigeo Kure, Gregorio Chazenbalk, and Mari Dezawa

Journal: Journal of the American Society of Nephrology

日本語タイトル：「アドリアマイシン腎障害に対して静脈投与したヒト Muse 細胞のもたらす有効性」

著者：内田奈生、串田良祐、北田容章、若尾昌平、熊谷直憲、黒田康勝、根東義明、廣原ゆかり、呉繁夫、Gregorio Chazenbalk, 出澤真理

雑誌名：米国腎臓学会誌

**【お問い合わせ先】**

**（研究に関すること）**

東北大学大学院医学系研究科 細胞組織学分野

教授 出澤真理（でざわ まり）

電話番号:022-717-8025

FAX 番号:022-717-8030

日本大学医学部医療管理学分野

教授 根東義明（こんどう よしあき）

電話番号:03-3972-8111(内)2280

FAX 番号:03-5964-7036

**（報道に関すること）**

東北大学大学院医学研究科・医学部 広報室

講師 稲田 仁（いなだ ひとし）

電話番号:022-717-7891

FAX 番号:022-717-8187

Eメール:pr-office@med.tohoku.ac.jp

**（Muse 細胞事業に関するお問い合わせ）**

（株）生命科学インスティテュート 総務法務部（広報）

報道専用：担当 中野 二郎（なかの じろう）

電話番号:03-5577-0440

当社ウェブサイト <https://www.lsii.co.jp/inquiry/index.php>