慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Intrarenal injection of bone marrow-derived angiogenic cells reduces endothelial injury and mesangial cell activation in experimental glomerulonephritis.
Sub Title	骨髄由来の血管新生細胞の腎臓内投与は、実験系糸球体腎炎の内皮障害とメサンギウム細胞の活性化を抑制する
Author	内村, 英輝(Uchimura, Hideki)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.25-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0025

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Intrarenal injection of bone marrow-derived angiogenic cells reduces endothelial injury and mesangial cell activation in experimental glomerulonephritis.

（骨髄由来の血管新生細胞の腎臓内投与は、実験系糸球体腎炎の内皮障害とメサンギウム細胞の活性化を抑制する）

内　村　　英　輝

内容の要旨

内皮前駆細胞を含むと考えられる骨髄単核細胞による血管新生療法が、閉塞性動脈硬化症およびBurger病患者の下肢虚血障害に有用であることが証明されている。この治療法が腎疾患に応用できるか否かは未だ明らかでない。そこで本研究では、実験腎炎モデルーThy-1糸球体腎炎において培養骨髄単核細胞を腎動脈内に注入して、その効果を検討した。

（対象と方法）

６週齢の雌ルイスラットの尾静脈に、体重100gあたり250μgのモノクローナル抗体1-22-3を注射し、Thy-1糸球体腎炎ラットを作成した。内皮前駆細胞が育つ条件下で培養した骨髄単核細胞1.0±0.2 x 10^6個を、蛍光マーカーCM-DiIで標識した後PBSに溶解し計１mlとし、抗体注射翌日のThy-1糸球体腎炎ラットの左腎動脈に選択的に注入し、６日後の左右の腎臓の形態を評価した。また、注入細胞がVEGFを産生するか否かを検討するため、骨髄単核細胞を採取し、培養４日間（採取直後）ならびに、培養６日目から９日目まで（注入時）の培養上清中VEGF濃度をELISA法で測定した。

（結果と考察）

培養骨髄単核細胞は、アセチルLDLを取り込み、かつBS-1レクチン陽性であった。これらの性質はいずれも内皮前駆細胞に見られ、我々の培養条件で内皮系への分化が誘導されている所見と考えられた。

抗体注射７日後のThy-1糸球体腎炎において糸球体内の内皮細胞は減少することが知られているが、骨髄細胞を注入された左腎では、右腎に比して内皮細胞減少の著しい抑制が認められた。それに加え、左腎ではメサンギウム細胞の活性化、増殖性変化、および糸球体内マクロファージの浸潤も抑制された。

CM-DiI陽性細胞は左腎の糸球体に分布したが、右腎には分布しなかった。糸球体内に取り込まれたCM-DiIラベル細胞の16.5±1.2%が、成熟した血管内皮細胞のマーカーであるRECA-1染色に対して陽性であった。

細胞移植による血管新生療法において、移植細胞が産生する内皮増殖因子が重要な役割をするという報告に基づき骨髄単核細胞のVEGF産生量を検討したが、採取直後の産生量は少量だが注入時には著明に増加することが分かった。

本実験で、培養骨髄単核細胞をThy-1糸球体腎炎ラットの腎動脈内に注入することにより、その内皮障害、メサンギウム細胞の活性化、増殖性変化、および炎症性変化を抑制することが出来た。これは、注入された培養骨髄単核細胞が糸球体内で内皮細胞として取り込まれたことや、糸球体内で産生された血管新生因子によって、培養骨髄単核細胞の腎保護効果が糸球体障害の過程で発揮された結果と推察された。

以上より、腎機能障害の進行に対して効果のある治療法が限られている現状において、今後、本実験の血管新生細胞療法が新しい治療法の一つとなり得ることが示された。

論文審査の要旨

骨髄単核細胞による血管新生療法の有用性が認められ、閉塞性動脈硬化症等において優れた効果が報告されているが。腎疾患の治療に有用か否かは明らかでない。そこで本研究では、ラットに抗胸腺抗体により糸球体腎炎を発症させ、この腎炎ラットにおいて内皮前駆細胞が育つ条件で培養した骨髄単核細胞を注入し、腎炎の進展阻止効果を検討した。

1.0±0.2×10^6個の培養骨髄単核細胞を腎炎ラットの左腎動脈より注入したところ、腎炎発症７日目の時点で、注入された左腎では右腎に比して内皮細胞の減少が有意に抑制され、メサンギウム細胞の活性化と増殖性変化の抑制および糸球体内へのマクロファージの浸潤も抑制された。糸球体に取り込まれた骨髄単核細胞はアセチルLDLを取り込み、かつBS-1レクチン陽性であった。しかし腎組織の観察において、糸球体へ取り込まれた細胞数は１～２個であった。移植細胞の効果発現には、その細胞が産生する内皮増殖因子が重要と考えられていることから、骨髄単核細胞のVEGF産生量を別の培養実験で検討し、培養した骨髄細胞ではVEGFの産生量が著しく増加することを明らかにした。以上の結果から、腎炎ラットの腎動脈から注入した培養骨髄単核細胞は、糸球体内で内皮細胞として取り込まれ、VEGF等の産生によって糸球体障害の進展阻止効果を発揮すると結論した。

以上の研究に関してまず問題となったのが1.0±0.2×10^6個の培養骨髄単核細胞を腎動脈から注入しても、組織学的観察で１つの糸球体に１～２個しかとりこまれていなかったことである。注入量を２～３倍量にしても取り込まれる細胞数には大きな変化がなく、しかし、明らかに腎炎の進行が阻止されたので、その後の実験はすべて1.0±0.2×10^6個の細胞を注入して実験したとされた。糸球体へ取り込まれる骨髄単核細胞がわずかであるのにも関わらず、腎炎の進行が明らかに阻止された機序に関して議論がなされた。本研究者は、腎組織の観察は一断片で見ているので、一断片で１個でも糸球体全体では数個の細胞があり、そこから放出されるVEGF等の血管新生因子が重要な役割を果たして腎保護効果を発揮したと考えた。それを確認するためにVEGFを腎炎モデルの腎動脈に注入して、その阻止効果が観察されればよかったと助言された。また用いた抗胸腺抗体腎炎が、本研究のために妥当であったかも議論された。抗胸腺抗体腎炎はヒトの糸球体腎炎にきわめて類似したモデルであるが、軽い腎炎であり、抗体注射後１週間の時点で最も腎障害がつよく、２週間後に腎障害が改善してくるモデルであることから、腎組織の観察時間が問題であるとされた。当研究者は、ヒトの腎炎に近いものとしてこのモデルを用い、腎組織の観察は病変の強い７日目に行ったとされた。

以上のように本研究において培養骨髄単核細胞の注入が腎炎の進行を阻止した機序は明らかでないが、新しい腎炎の治療を考える上で、大変興味ある研究と評価された。

論文審査担当者　主査　内科学　猿田　享男
　　泌尿器科学　村井　　勝　　内科学　池田　康夫
　　病理学　岡田　保典
学力確認担当者：北島　政樹、村井　勝
　　審査委員長：村井　勝

試問日：平成17年 2月26日