

ステロイド投与家兎骨壊死モデルにおける 骨髄由来間葉系幹細胞の全身投与による予防

植田修右、市堰 徹、土屋雅信、相馬大輔、兼氏 歩、川原範夫
(金沢医科大学大学院医学研究科 臨床医学 整形外科学)
上田善道 (金沢医科大学 病理学)

ステロイド関連大腿骨頭壊死症の原因は虚血といわれている。しかし、その詳細な病態は未だ解明されていない。近年その予防に関しても検討されているが、再生医療の概念を取り入れた研究は少ない。また予防を考える上で、侵襲の少ない方法を検討する必要がある。そこで、今回ステロイド投与家兎骨壊死モデルを用いて、低侵襲である静脈内投与を選択し、骨髄由来間葉系幹細胞を全身投与することで骨壊死が抑制されるか検討した。

1. 研究目的

ステロイド関連大腿骨頭壊死症の分野では、再生医療の概念を取り入れた予防法についての報告が非常に少ないことが現状である。そのため、再生医療を念頭に置いた侵襲の少ない予防法を考える必要がある。近年骨髄由来間葉系幹細胞(MSC)についての研究が数多く報告されている。MSC における組織修復作用や傷害部位への集簇(Homing)、免疫抑制効果などが注目されており、肝障害や虚血性心疾患などの予防法や治療法として期待されている¹⁾。そこで、ステロイド投与家兎骨壊死モデルを用いてMSCの全身投与による骨壊死の予防効果の可能性について検討した。

2. 研究方法

経静脈的に全身投与した MSC の各部位への分布を調査するために緑色蛍光タンパク質(GFP)ベクターをMSCに導入し、蛍光染色にてMSCにGFPが確実にLabelingしていることを確認し、本検討を行った。GFP-labeled MSC (GFP-MSC)を日本白色家兎の耳静脈に静脈内投与し、さらにメチルプレドニゾン20mg/kg (MP)を殿筋内投与した。骨内への傷害が発生する投与後3日目に安楽死させ、大腿骨、脊椎、肝臓、腎臓、肺、血管を採取し、各臓器におけるウエ

スタンプロット法によるGFP-MSCの発現について検討した。また、投与後14日目に安楽死させ、大腿骨を採取し、病理組織学的検討を行った。対照群として、physiological salineを耳静脈に静脈内投与し、MPを殿筋内投与したものをそれぞれ投与後3日目と14日目に安楽死させた。

3. 研究結果

ウエスタンプロット法による各臓器でのGFP-MSCの発現では、MSC投与群において大腿骨にのみGFP-MSCの発現を認め、その他の臓器にはGFP-MSCの発現を認めなかった。また、病理組織学検討においては、骨壊死を明らかな骨細胞壊死および/または骨髄細胞壊死を認めるものと定義した場合、対照群の壊死発生率が70%に対して、MSCを投与した群では骨壊死の発生率が12.5%と有意な低下を認めた。

4. 考察

MSCは炎症部位や傷害部位に集簇する性質(Homing)があり、血管新生や抗炎症作用、組織修復などの作用を有することが報告されている¹⁾。本検討において、全身投与したMSCが他臓器には出現せず、壊死好発部位である大腿骨に特異的に出現した。

今回投与した MSC に GFP を Labeling したことで、MSC の傷害部位への Homing 作用を確認することができた。また、MSC は虚血組織、すなわち低酸素環境においてその活性が増強される²⁾。本モデルにおいても骨壊死発生率に関して、対照群と比較して MSC 投与群では有意に骨壊死予防効果が示された。このことから、虚血部位への MSC の組織修復作用の関与が考えられる。今回の手法は経静脈的な全身投与であり、手技も簡便で侵襲も少ないことから非常に有益な予防手段であることが考えられた。

5. 結論

MSC を全身投与することによって、ステロイド投与家兎骨壊死モデルにおける壊死好発部位である大腿骨に MSC が特異的に集まること示された。また、ステロイド投与家兎骨壊死モデルにおいても、MSC の全身投与による骨壊死発生予防の可能性が考えられた。

6. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ueda S, Shimasaki M, Ichiseki T, Ueda Y, Tsuchiya M, Kaneuji A, Kawahara N. Prevention of glucocorticoid-associated osteonecrosis by intravenous administration of mesenchymal stem cells in a rabbit model. *BMC Musculoskelet Disord.* 2017 Nov 21;18(1):480.

2. 学会発表

- 1) 市堰徹、植田修右、土屋雅信、兼氏歩、松本忠美、川原範夫：骨髄由来間葉系幹細胞の全身投与によるステロイド性骨壊死の予防、第 43 回日本股関節学会学術集会 . 大阪、2016.11.04

7. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

8. 参考文献

- 1) D'souza N, Rossignoli F, Golinelli G, Grisendi G, Spano C, Candini O, et al. Mesenchymal stem/stromal cells as a delivery platform in cell and gene therapies. *BMC Med.* 2015;13:186.
- 2) Ciapetti G, Granchi D, Fotia C, Savarino L, Dallari D, Del Piccolo N, et al. Effects of hypoxia on osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells used as a cell therapy for avascular necrosis of the femoral head. *Cytotherapy.* 2016;18(9):1087-99.