

## New cell delivery system CellSaic with adipose-derived stromal cells promotes functional angiogenesis in critical limb ischemia model mice

大阪大学大学院医学系研究科外科学講座心臓血管外科

谷岡 秀樹, 宮川 繁, 森 大輔, 渡辺 健一, 上野 高義, 戸田 宏一, 澁谷 卓, 倉谷 徹, 澤 芳樹

Hideki TANIOKA, Shigeru MIYAGAWA, Daisuke MORI, Ken-ichi WATANABE, Takayoshi UENO, Koichi TODA, Takashi SHIBUYA, Toru KURATANI, Yoshiki SAWA

### 1. 背景

重症下肢虚血患者の予後は、集学的治療にもかかわらず下肢切断や死亡に至るケースが多く、新しい血管新生療法の開発が期待されている。重症下肢虚血に対して骨髄単核球細胞や末梢血単核球細胞などによる臨床試験が行われてきたが、いずれの試験においてもABI (ankle brachial index) の改善や自覚症状の軽減といった点において一定の効果を上げているものの、救肢率の改善までには至っていない。細胞治療の効果が乏しいことの原因の1つに、細胞の生着率の低さが挙げられている。

細胞接着性の高いRGD (Arg-Gly-Asp) 配列 (インテグリンと相互作用あり) を含む、ヒト1型コラーゲンの組み換え合成ペプチドであるcellnestが、生体模倣スキャフォールド (細胞の足場素材) として開発された。移植細胞とcellnestを混合培養することで、移植細胞がcellnestを足場として複合体「CellSaic」と呼ばれる組織体を形成し、移植細胞の生着効率を上げることが、糖尿病モデルマウスに対する膵島細胞の移植実験において確認された。また、細胞の生着効率を上げることによる治療効果として、血糖値の改善がみられた。この先行実験から、重症下肢虚血に対する細胞治療においても細胞の生着率を上昇させるという点においてCellSaicが応用できないかと考えた (図1)。

### 2. 仮説

脂肪由来間質系細胞 (adipose derived stromal cell, ADSC) 含有 CellSaic は移植細胞の生着率を改善させること

本受賞レポートの対象論文はJ Artif Organ誌に掲載されています。Tanioka H, Miyagawa S, Mori D, et al. J Artif Organs 24: 343-50, 2021

#### ■ 著者連絡先

谷岡 秀樹

E-mail. b.jack142760@gmail.com

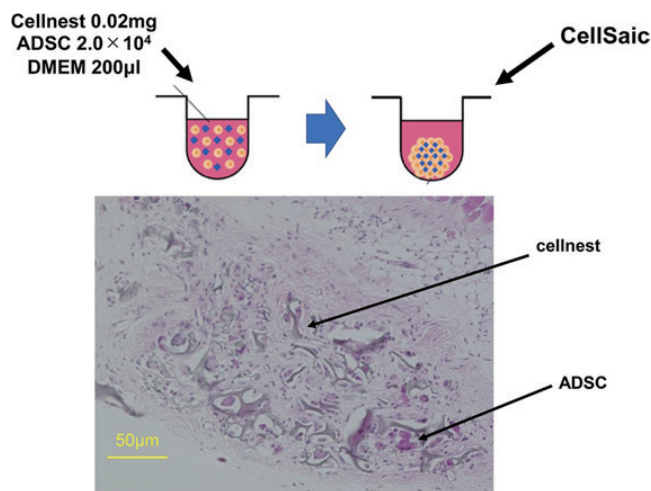


図1 CellSaicの合成および組織像

Reprinted from J Artif Organs 24: 343-50, 2021 with permission.

により、ADSC単独移植と比較し、重症下肢虚血モデルマウスにおいてより有効な血流改善効果を示す。

### 3. 方法

C57BL/6Nマウスの鼠径脂肪にcollagenaseを加え、遠心分離してから培地に播種し、継代 (passage5) したADSCを実験に用いた。CellSaicの作製については、先行論文における膵頭細胞の移植実験と同様の方法で行った。

重症下肢虚血モデルの作製は、第8週齢のC57BL/6Nマウスの雄の大腿動脈を結紮除去し、1週間経過させたものを重症下肢虚血モデルとした。重症下肢虚血モデルに対する治療の有効性をCellSaic群、ADSC群、NS群、cellnest群の4つに分けて比較検討を行った。1週間おきにレーザードップラー血流計にて評価し、28日目に最終の血流評価後に大腿の筋組織を摘出し、組織評価を行った (図2)。

移植細胞の生着率を評価するため、GFP (green fluorescent protein) マウスから採取したGFP陽性ADSCを使用し、重

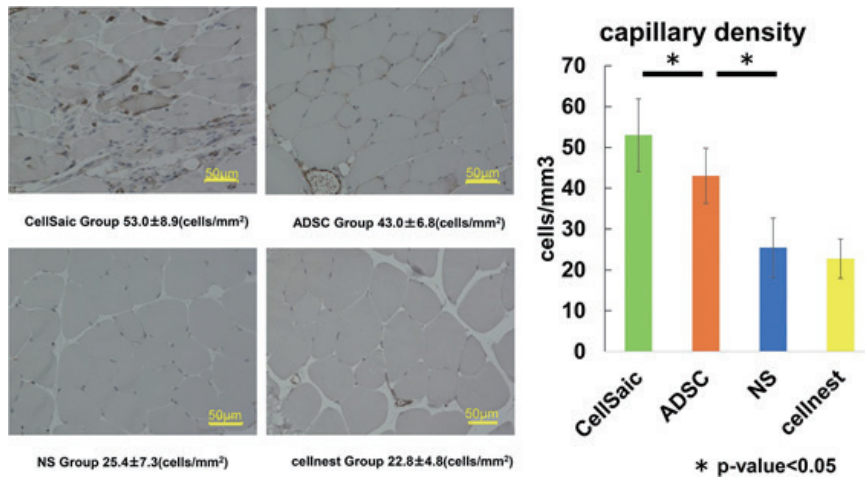


図2 CellSaicによる血管新生  
Reprinted from J Artif Organs 24: 343-50, 2021 with permission.

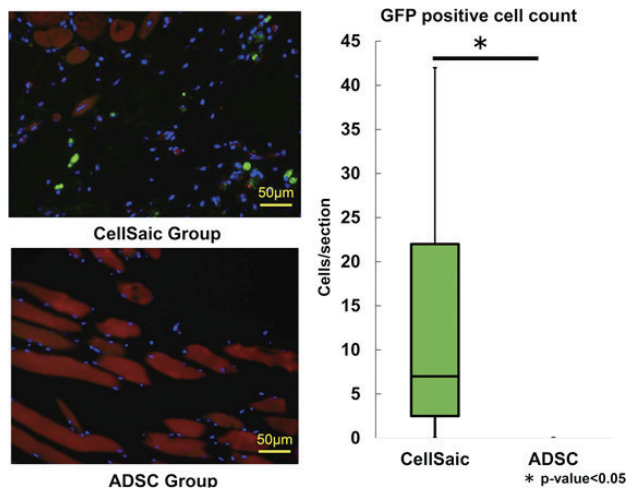


図3 CellSaicによる生着率の改善  
Reprinted from J Artif Organs 24: 343-50, 2021 with permission.

症下肢虚血モデルマウスにGFP陽性ADSC単独あるいはGFP陽性ADSC含有CellSaicを投与し、投与後28日目のGFP陽性細胞数を評価した。

#### 4. 結果

ADSC群と比較してCellSaic群では下肢血流が有意に改善し、微小血管数および成熟微小血管数はADSC群と比較しCellSaic群において有意な増加を認めた。また、ADSC群と比較して、CellSaic群において組織中のHGF (hepatocyte growth factor) 発現量は有意に上昇していた。さらに、ADSC群と比較してCellSaic群で生着細胞の数は有意に多かった(図3)。

#### 5. 考察

従来行われていた細胞単独投与における問題点である、投与した細胞の生着率が低い原因として、①単純な拡散のみでは組織中心部への栄養運搬が不十分となり、中心部に

壊死が起こる central necrosis と、②細胞と細胞外マトリックス間の接着が失われることで誘発されるアポトーシスである anoikis が挙げられる。

CellSaicによって移植細胞の生着率が改善するメカニズムとしては、①適度な間隙ができることにより拡散能が向上し central necrosis を予防できること、②cellnestがADSCの細胞外マトリックスとして働き、インテグリンの細胞内シグナルを介して anoikis を抑制することが考えられる。

#### 6. 結語

ADSC含有CellSaicは移植細胞の生着率を改善することにより、ADSC単独投与と比較して、マウス重症下肢虚血モデルにおいて有意な血流改善を認めた。

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。