

～猫アレルギー性喘息に対する間葉系幹細胞治療効果～

Long term evaluation of mesenchymal stem cell therapy in a feline model of chronic allergic asthma

Julie E Trzil et al. (2014) *Clin Exp Allergy*. 2014 December ; 44(12): 1546–1557.

«Intro»

- ・慢性的な喘息に対して間葉系幹細胞の治療効果が期待されている。
- ・今回の研究では、脂肪由来間葉系幹細胞（ADSC）が猫アレルギー性喘息の気道の炎症や気流制限、過敏症に対して効果があるかどうかを長期間（1 年間）にわたり検討する。

«評価方法»

- ・気道の炎症：気管支肺胞洗浄液（BALF）の細胞診断。
- ・気流制限：臨床スコアと人工呼吸器による肺動力学（VAS）。
- ・気道リモデリング：胸部 CT 画像をスコア化。（LA:肺の菲薄化、WBT:気管支壁の肥厚）
- ・免疫反応：血液と BALF で評価。（IgE、IL-10、リンパ球増殖）

«実験モデル»

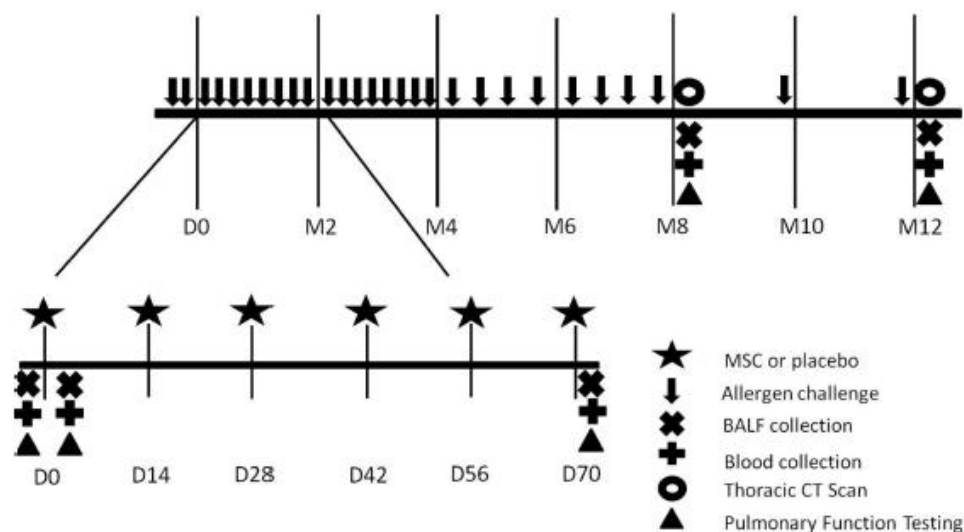
- ・9 匹の猫（♂、12 カ月、体重 4.6-6.3kg）
- ・喘息は BGA に対する反応で誘発させた。（BALF で 17%以上の好酸球増多）

«Study Design»

- ・喘息誘発後、9 カ月間アレルギーチャレンジを行いエンロール。
- ・アレルギーチャレンジ：0-4 ヶ月;週に 1 回、4-8 カ月;2 週に 1 回、8-12 カ月;月に 1 回実施。
- ・アレルギーチャレンジはサンプル採取の 24 時間前および投与の 48 時間後に実施。
- ・血液検査、BALF 検査、肺機能検査：Day0(BL),3,75,241,367 に実施。
- ・胸部 CT：投与 8,12 カ月後に実施。

«ADSC 投与»

- ・投与スケジュール：他家 ADSC(n=5)および PBS(n=4)を Day0,114,28,42,56,70 に iv 投与。
- ・ADSC 生存率：Ave. 92%（84-98%）
- ・ADSC 投与量：Ave. 1.44×10^7 (3.64×10^6 - 2.50×10^7)



「結果」

[気道の炎症]

- BALF の好酸球増加で評価。
- 処置群（ADSC 投与群と PBS 投与群）および時間経過による比較で有意差なし。（Table3）

[気流制限]

- 臨床スコア、VSA 共に処置群および時間経過による比較で有意差なし。（Table3）

[気道リモデリング]

- 気道リモデリングは肺機能の低下を引き起こす。
- BWT（気管支の肥厚）、LA（肺の菲薄化）共に投与後 8 ヶ月で有意差がみられた。
（BWT score:p=0.049、LA score;p=0.031）（Figure2）
- 一方、12 カ月時点では有意差なし。（BWT score;p=0.077、LA score;p=0.406）（Figure3）

[免疫反応]

- IgE：血清と BALF 共に処置群および時間経過による比較で有意差なし。（Table3）
- IL-10：LPS 刺激後に IL-10 を測定。血液では ADSC 投与群の BL で有意な低値を示した。（p=0.003）
BALF では処置群および時間経過による比較で有意差なし。（Table3）
- CD4⁺T リンパ球：処置群および時間経過による比較で有意差なし。（Table3）ADSC 処置で CD4⁺T リンパ球の増殖は抑制できない。

[Safety]

- 副作用なし。

«まとめ»

- 今回の実験では、ADSC 投与 8 ヶ月時点で胸部 CT 画像で BWT と LA の有意な変化がみられたが、12 ヶ月経過した時点で有意差はなくなっていた。
- そのほかの、評価項目では ADSC 投与で有意な改善はみられなかった。
- 一方で、齧歯類モデルを用いた実験では気道の好酸球増加と気道過敏症で幹細胞の治療効果がみられた。このことは、齧歯類と比べて猫の複雑な遺伝子や免疫システムが関係しているかもしれない。

Table 3

Selected Blood and Bronchoalveolar Lavage Assays for MSC-treated and Placebo-treated Asthmatic Cats

Assay	Tx ^a	Baseline	Day 3	Day 75	Month 8	Month 12
BALF ^b eosinophil %	PBS ^c	33 ± 14	45 ± 27	55 ± 8	40 ± 6	44 ± 8
	MSC ^d	37 ± 11	64 ± 14	50 ± 22	41 ± 19	57 ± 12
Composite Clinical score	PBS	3.3 ± 0.5	4.1 ± 0.9	4.3 ± 0.9	4.3 ± 0.9	4.3 ± 1.3
	MSC	4.0 ± 0.5	3.4 ± 0.8	3.7 ± 1.3	3.2 ± 1.7	3.2 ± 1.2
VAS ^e	PBS	4.5 ± 2.2	7.4 ± 0.6	6.3 ± 1.4	5.2 ± 1.1	4.3 ± 2.2
	MSC	5.9 ± 1.3	5.2 ± 2.0	5.2 ± 3.1	3.8 ± 3.3	2.8 ± 1.8
EC150RAW ^f	PBS	1.3 (1.2-30.2)	1.3 (1.2-1.9)	1.7 (1.2-3.1)	1.2 (0.3-1.9)	3.2 (2.2-4.4)
	MSC	2.3 (1.2-12.9)	1.3 (1.3-17.7)	1.3 (1.2-13.7)	1.3 (1.1-49.5)	4.0 (1.8-6.2)
BALF IgE (EU ^g)	PBS	258 (144-609)	725 (242-1645)	331 (121-706)	997 (304-1776)	220 (125-535)
	MSC	315 (123-1181)	745 (103-1023)	468 (105-1424)	288 (146-1006)	261 (79-2139)
Serum IgE (EU)	PBS	93 (17-603)	448 (196-12271)	587 (125-803)	120 (19-2301)	173 (24-11422)
	MSC	15 (14-256)	16 (14-743)	242 (19-3583)	17 (15-2716)	143 (17-19694)
WB ^h IL-10 restimulation (pg/ml)	PBS	406 (345-770)	377 (177-680)	125 (125-125)	125 (125-125)	134 (125-197)
	MSC	125 (125-136) *	357 (158-865)	125 (125-141)	125 (125-125)	221 (125-258)
BALF ⁱ IL-10 restimulation (pg/ml)	PBS	492 (158-828)	635 (252-3197)	405 (125-2423)	646 (125-1917)	546 (179-887)
	MSC	1306 (535-2204)	864 (487-1569)	569 (482-763)	391 (149-936)	824 (462-1368)
BGA ^j -specific lymphocyte proliferation %	PBS	3.9 ± 3.8	1.8 ± 2.6	1.2 ± 0.3	1.4 ± 1.2	0.7 ± 0.9
	MSC	3.4 ± 3.1	1.5 ± 1.2	1.8 ± 1.6	1.3 ± 1.0	0.4 ± 0.5

Parametric data are expressed as mean ± standard deviation and non-parametric data are expressed at median (interquartile range).

* p<0.05 in MSC-treated cats compared with placebo-treated cats.

^a Tx – treatment group

^b BALF – bronchoalveolar lavage fluid

^c PBS – placebo-treated asthmatic cats

^d MSC – MSC-treated asthmatic cats

^e VAS – visual analog scale of respiratory symptoms

^f EC150RAW – dose of BGA increasing baseline airway resistance by 150%

^g EU – ELISA units

^h WB – whole blood

ⁱ BALF – bronchoalveolar lavage fluid

^j BGA – Bermuda grass allergen

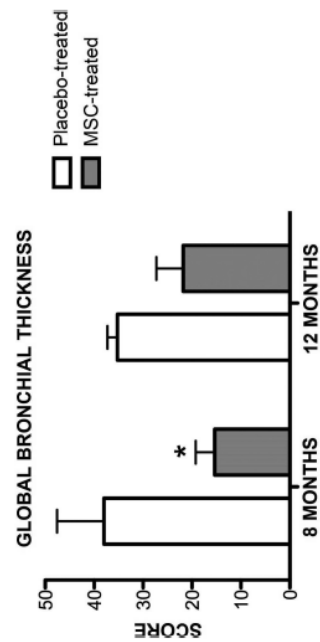


Figure 2. Global Bronchial Wall Thickness Score on Thoracic CT
Mean $\pm$ standard deviation of bronchial wall thickness scores were determined during inspiration in MSC- (n=5) and placebo-treated (n=4) cats at month 8 and 12 after experimental treatment. Cats given experimental treatments and were compared to a healthy cat with a mid-range score as has been done previously [27]. *p=0.049

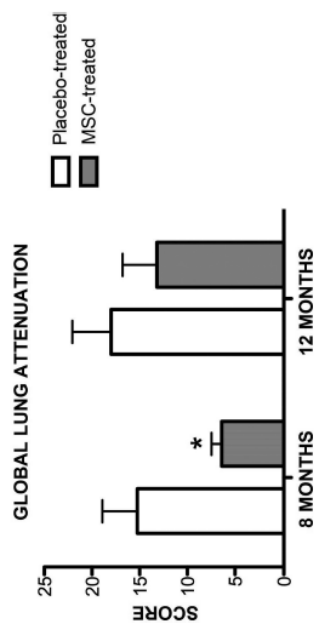


Figure 3. Global Lung Attenuation Score on Thoracic CT
Mean $\pm$ standard deviation of global lung attenuation scores determined during inspiration in MSC- (n=5) and placebo-treated (n=5) cats at month 8 and 12 after experimental treatment. *p=0.031