

間葉系幹細胞の新しい機能 —免疫調節細胞としての間葉系幹細胞—

秋山謙太郎, 古味佳子, 窪木拓男

A new function of mesenchymal stem cells — Mesenchymal stem cells as immunomodulatory cells —

Kentaro Akiyama, DDS, PhD, Keiko Komi, DDS, PhD and Takuo Kuboki, DDS, PhD

抄 録

間葉系幹細胞は、様々な体細胞に分化できる多分化能を有している事が知られており、その性質を応用した組織再生療法が長年に渡り、研究・臨床応用されて来た。一方、間葉系幹細胞の持つ免疫調節機能が着目されるようになり、様々な全身性免疫疾患に対する間葉系幹細胞移植療法の治療効果が報告されるようになった。このように間葉系幹細胞の機能は多岐に渡るが、その機能自体や制御メカニズムは未だ不明な点が多く、治療効果が不確実な場合もある。本稿では間葉系幹細胞の持つ機能のうち、とりわけ免疫調節機能の発現と治療効果が得られるメカニズムについて我々の研究データとともに紹介する。

キーワード

間葉系幹細胞, 免疫調節機能, FAS/FASL, 制御性 T 細胞, 免疫寛容

I. はじめに

間葉系幹細胞が骨髓組織から単離・培養されてからおよそ半世紀近くが経過した¹⁾。現在では骨髓だけでなく、筋組織²⁾、皮膚³⁾、脂肪⁴⁾、臍帯組織⁵⁾、更には歯髄⁶⁾や歯周組織である歯根膜⁷⁾、歯乳頭⁸⁾、歯肉⁹⁾といった様々な体組織に存在し、組織のリニューアルに関与していると考えられている。間葉系幹細胞の古典的定義としては、①培養皿に付着する付着細胞であること、②コロニー形成能で示される自己複製能を有すること、そして、最も重要な特徴である、③骨、軟骨、脂肪、筋肉などの中胚葉組織や、外胚葉性である神経細胞、内胚葉性の肝細胞へ分化できる多分化性、可塑性を有していることが挙げられる^{10,11)}。この間葉系幹細胞の特性を応用した組織工学的再生療法では、①細胞を局所に停滞させるキャリアー、②細胞の生存や分化を促進させるサイトカイン、③多分化能を有する間葉系幹細胞の3つの要素を同時に移植することで、喪失組織を再生させ、障害された機能を回復させるこ

とができるとの基礎研究や臨床応用成果が数多く報告されてきた。しかし、間葉系幹細胞が組織再生の初期の炎症期に多数誘導されるという事実から、間葉系幹細胞が炎症期には炎症を抑え、再生の場を最適化するツールとして機能する可能性を示唆してきた。その最たる機能が免疫調節機能である。この間葉系幹細胞の持つ免疫調節機能は、これまで治療に抵抗性を示した難治性の自己免疫疾患の症状を緩和させることが認められ、これらの疾患に幹細胞移植療法が行われるようになった(表1)。海外ではすでに他家幹細胞製剤が開発され、移植片対宿主病に対する新しい治療薬として市販されるに至っている。

本稿では、間葉系幹細胞の免疫調節機能がどのように免疫担当細胞に作用し、また、どのように疾患の症状改善に繋がるのかを紹介する。

II. 間葉系幹細胞と免疫担当細胞

間葉系幹細胞がT細胞やB細胞に代表される免疫担当細胞を制御するという現象やそのメカニズムにつ

表 1 間葉系幹細胞移植療法

疾患	種族	投与細胞	投与方法	参考文献	発表年
皮膚移植	サル	サル骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Bartholomew et al. ¹²⁾	2002
全身性エリテマトーデス	マウス	マウス骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Sun et al. ¹³⁾	2009
	マウス	脱落乳歯髓幹細胞/同種間	静脈内投与	Yamaza et al. ¹⁴⁾	2010
多発性硬化症	マウス	マウス骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Zappia et al. ¹⁵⁾	2005
全身性硬化症	マウス	ヒト脂肪由来間葉系幹細胞/同種間	腹腔内投与	Gonzalez et al. ¹⁶⁾	2009
関節リウマチ	マウス	TGFβ形質導入マウス骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	腹腔内投与	Park et al. ¹⁷⁾	2011
	マウス	マウス骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Akiyama et al. ¹⁸⁾	2012
大腸炎	マウス	マウス骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Akiyama et al. ¹⁸⁾	2012
	マウス	ヒト歯肉由来間葉系幹細胞/同種間	腹腔内投与	Zhang et al. ⁹⁾	2009
糖尿病	マウス	ラット歯髓幹細胞/同種間	静脈内投与	Zhao et al. ¹⁹⁾	2012
	マウス	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Lee et al. ²⁰⁾	2006
	マウス	マウス骨髓由来間葉系幹細胞/同系・同種異系	静脈内投与	Urbán et al. ²¹⁾	2008
移植片対宿主病	マウス	マウス骨髓由来間葉系幹細胞/同系・同種異系	静脈内投与	Fiorina et al. ²²⁾	2009
	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Le Blanc et al. ²³⁾	2004
	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Prasada et al. ²⁴⁾	2010
	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Perez-Simon et al. ²⁵⁾	2011
	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Baron et al. ²⁶⁾	2010
全身性エリテマトーデス	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Zhou et al. ²⁷⁾	2010
	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Liang et al. ²⁸⁾	2010
	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Wang et al. ²⁹⁾	2012
	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/自己	静脈内投与	Carrión et al. ³⁰⁾	2009
	ヒト	ヒト臍帯血由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Akiyama et al. ¹⁸⁾	2012
全身性硬化症	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/自己	静脈内投与	Connick et al. ³¹⁾	2012
	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/自己	静脈内投与	Llufriu et al. ³²⁾	2014
腎臓移植	ヒト	ヒト胎盤由来間葉系幹細胞	静脈内投与	Lublin et al. ³³⁾	2014
	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/自己	静脈内投与	Reinders et al. ³⁴⁾	2013
クローン病	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/自己	静脈内投与	Perico et al. ³⁵⁾	2013
	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/自己	静脈内投与	Ciccocioppo et al. ³⁶⁾	2011
	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Mannon et al. ³⁷⁾	2011
	ヒト	ヒト胎盤由来間葉系幹細胞	静脈内投与	Mayer et al. ³⁸⁾	2013
心筋梗塞	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Forbes et al. ³⁹⁾	2014
	ヒト	ヒト骨髓由来間葉系幹細胞/同種間	静脈内投与	Hare et al. ⁴⁰⁾	2009

いてこれまでに多数の報告がある。

T細胞機能を間葉系幹細胞が抑制するメカニズムとして、Glennie らは Cyclin D2 の発現制御を挙げ、T細胞の細胞周期や増殖を抑制すると報告している⁴¹⁾。このT細胞増殖抑制には、間葉系幹細胞の産生する液性成分が中心的役割を果たしていると考えられている。例えば、ヒト骨髓由来間葉系幹細胞が産生する Transforming growth factor beta 1 (TGFβ1)、Hepatocyte growth factor (HGF)、Prostaglandin E₂ (PGE₂) は、T細胞のサブセットである CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞の両方の細胞増殖を抑制し⁴²⁾、Indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) はT細胞のトリプトファン分解を促進することでキヌレニン経路を阻害し、T細胞の増殖を抑制すると報告されている⁴³⁾。また、一酸化窒素 (NO) もT細胞抑制に作用していることが報告されている。Ren らは間葉系幹細胞が産生する NO がT細胞の増殖を抑制し⁴⁴⁾、また、別の報告では、T細胞内の転写因子である Signal transducer and activator of transcription 5 (STAT5) のリン酸化を抑制し、T細胞の増殖を抑制する⁴⁵⁾ としている。さらに、Human leucocyte antigen-G5 (HLA-G5) はヘルパー T細胞の中でも抗炎症作用のあるヘルパー 2 型 T細胞 (Th-2) や制御性 T細胞 (Regulatory T cells, Tregs) の増殖を促進することで間接的に炎症性 T細胞の増殖を抑制する^{46,47)} と報告されている。

B細胞に対する影響についても種々の報告がなされている。ヒト骨髓由来間葉系幹細胞がB細胞の抗体産生能と増殖を抑制したと報告され^{41,48)}、Deng らは移植間葉系幹細胞が、疾患モデルマウス由来 B細胞の増殖および IgG 産生を抑制したと報告している⁴⁹⁾。一方、間葉系幹細胞がB細胞の増殖や抗体産生能力を促進したという報告^{50,51)} もあり、未だ統一された見解は得られていない。

その他の免疫担当細胞についても幾つかの報告がなされている。Natural killer (NK) 細胞に対しては、間葉系幹細胞が産生する TGFβ, PGE₂ により増殖およびサイトカイン産生が抑制され^{52,53)}、マクロファージ⁵⁴⁾、樹上細胞⁵⁵⁾ も PGE₂ による成熟抑制を受けることが報告されている。

免疫寛容性獲得に重要であることが知られている Tregs についても様々な報告がなされている。Tipnis らは間葉系幹細胞の産生する IDO および直接的な細胞対細胞接触⁵⁶⁾ が、English らは TGFβ および PGE₂ が Tregs の成熟を促進するとしている⁵⁷⁾。さらに、幹細胞由来 PGE₂ が、炎症性サイトカインであるインターロイキン 17 (IL-17) を産生するヘルパー 17 型 T細胞 (Th-17) の分化を抑制するだけでなく、Tregs 様の抗炎症性作用を持つ T細胞に性質を変化させるといった報告⁵⁸⁾ もなされている。このように、間葉系幹細胞は様々な免疫担当細胞の増殖や活性、機能を抑制または促進することが報告されているが、こ

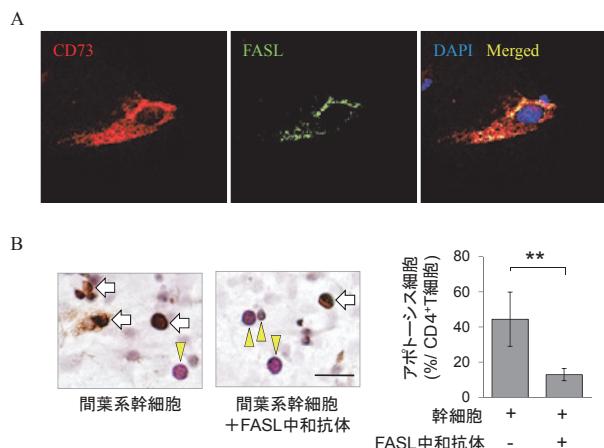


図1 間葉系幹細胞はFASLを介してT細胞アポトーシスを誘導する¹⁸⁾

(A) 幹細胞マーカーのひとつであるCD73とFASLの蛍光2重染色像

(B) 間葉系幹細胞とT細胞の共培養ではT細胞アポトーシスが誘導され、FASL中和抗体でその効果が打ち消されていた(TUNEL染色像)。

これらの作用が、どのようなメカニズムで全身性免疫疾患の症状改善に寄与しているのかは不明であった。

III. 間葉系幹細胞の免疫担当細胞アポトーシス誘導

間葉系幹細胞の免疫担当細胞に対する抑制は液性成分によるもの以外にも報告されている。Augelloらは間葉系幹細胞がT細胞のProgramed cell death-1 (PD-1) 経路を活性化させることによってT細胞の細胞死が誘導されることを報告している⁵⁹⁾。さらに、我々の研究結果においても、間葉系幹細胞は、T細胞のアポトーシス刺激の受容体であるFASに対するリガンド、FASLを発現しており¹⁸⁾、間葉系幹細胞とT細胞の共培養ではT細胞アポトーシスが誘導され、FASL中和抗体でこの効果が阻害されることがわかった(図1)。さらに、間葉系幹細胞を経静脈的にマウスに全身移植した場合、宿主T細胞のアポトーシス増加が移植後6時間をピークに観察された(図2)。また、機能的なFASLが変異したマウス(C3H/HeJ-Fas^{l^{td}}/J)骨髄由来間葉系幹細胞ではアポトーシス誘導作用が失われており(図2)、間葉系幹細胞がFASLを介して直接的にT細胞アポトーシスを誘導していることが明らかとなった。

IV. 宿主T細胞アポトーシス誘導と免疫寛容獲得

宿主免疫担当細胞が自己の組織や細胞を抗原として認識し、抗原抗体反応を示す自己免疫疾患に対し

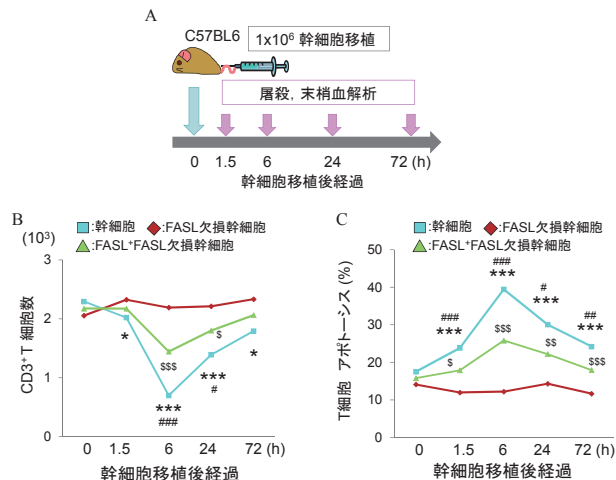


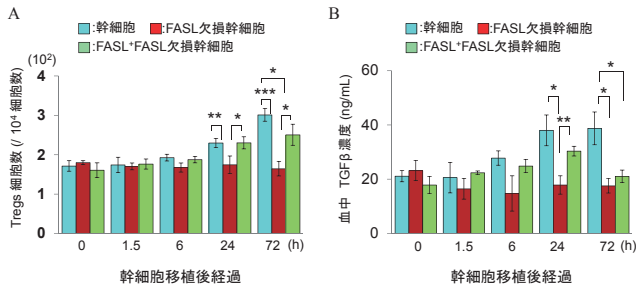
図2 間葉系幹細胞移植によるT細胞アポトーシス誘導¹⁸⁾

(A) 間葉系幹細胞移植タイムコース

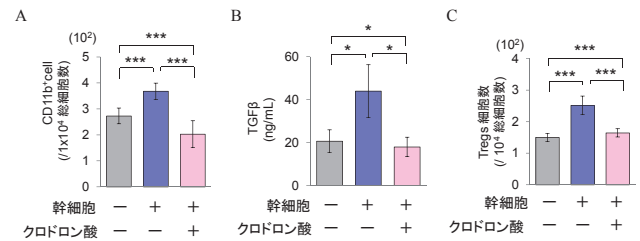
(B, C) 間葉系幹細胞移植後T細胞数の有意な減少およびアポトーシス誘導が観察されたが、FASL欠損幹細胞では観察されず、FASL欠損幹細胞に機能的FASL遺伝子導入した場合はT細胞数の減少、アポトーシス誘導が再び観察された。

て、過剰な免疫担当細胞を抑制し自己組織への攻撃を緩和する“免疫寛容”を獲得することが全身性免疫疾患の症状改善には有効である。この免疫寛容獲得の中心的役割を果たしているのがTregsとされており⁶⁰⁾、間葉系幹細胞全身投与後のTregsの増加は様々な疾患モデルで報告されている^{61,62)}。一方で抗CD3抗体刺激によるT細胞アポトーシス誘導はマクロファージ由来TGFβの産生を促進させ、Tregsの分化を促進するカスケードの引き金となることが報告⁶³⁾されており、間葉系幹細胞投与後においても血中TGFβの上昇と共にTregsの増加が認められた(図3)。また、FASL変異幹細胞ではこれらの現象を認めず(図3)、間葉系幹細胞移植後のTregs増加もT細胞アポトーシスが引き金となっていることがわかった。このTregs増加にマクロファージ由来TGFβが関与しているかどうかを確かめる為に、幹細胞移植と同時にマクロファージ阻害薬であるクロドロン酸を腹腔内投与した所、幹細胞移植後に増加していたマクロファージは著明に抑制され、TGFβの上昇も見られなくなった。その結果、Tregsの増加も抑制され、間葉系幹細胞移植後のTregs増加の一連のカスケードがT細胞のアポトーシス誘導とマクロファージ活性化によるTGFβ産生増加によることが明らかとなった(図4)。

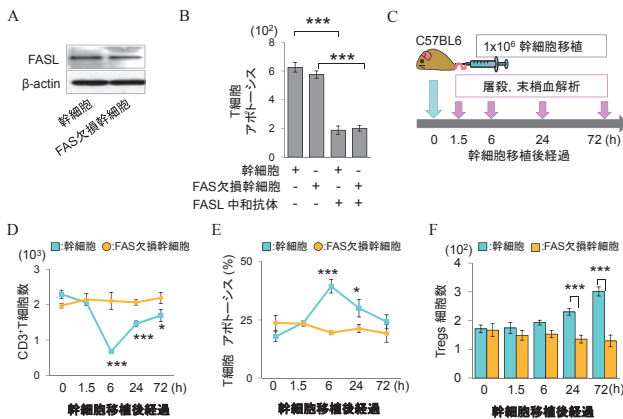
間葉系幹細胞の発現するFASLにより宿主T細胞アポトーシスが誘導され免疫寛容獲得の引き金となることが明らかとなったが、間葉系幹細胞自身の発現

図3 間葉系幹細胞移植後の制御性T細胞 (Tregs) 誘導¹⁸⁾

(A, B) 間葉系幹細胞移植後Tregs数の有意な増加とそれに伴った血中TGFβの上昇が観察された。FASL欠損幹細胞ではTregsの増加, TGFβの上昇ともに観察されず, FASL遺伝子導入でこれらの機能が回復された。

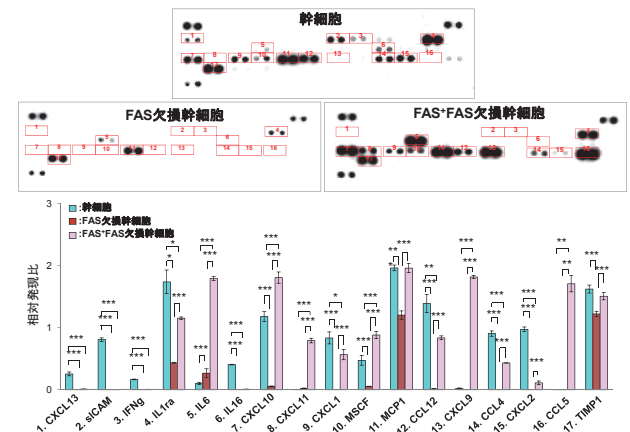
図4 マクロファージの増加とTGFβ産生¹⁸⁾

(A~C) 間葉系幹細胞移植後にマクロファージ数の増加が観察され, それに伴いTGFβの上昇, Tregs細胞数の増加が観察された。マクロファージ阻害剤であるクロドロン酸の同時投与では幹細胞移植後にTGFβの上昇, Tregs細胞数の増加は観察されなかった。

図5 FAS欠損幹細胞移植ではT細胞アポトーシス誘導効果がない¹⁸⁾

(A, B) FAS欠損幹細胞は機能的FASLを発現しており, T細胞との共培養ではアポトーシス誘導が観察された。(C~F) FAS欠損幹細胞移植ではT細胞アポトーシスが観察されず, Tregsの誘導も観察されなかった。

するアポトーシス刺激受容体であるFASも一連のカスケードに関与することが我々の実験結果から判明した。FAS変異マウス(C3MRL-Fas^{lpr}/J) 骨髄由来間葉系幹細胞は, 機能的なFASLを発現しており, *in vitro* においてはT細胞アポトーシスを誘導するものの, 経静脈的全身移植した場合, T細胞のアポトーシス誘導を引き起こさず, Tregs増加も認めなかった(図5)。これはFAS変異間葉系幹細胞の培養上澄ではMonocyte Chemotactic Protein-1 (MCP-1)等のケモカインが著明に低下しており(図6), FASがこれらの液性成分分泌に関与していることが示唆された。すなわち, アポトーシス刺激の受容体であるFASが, そのリガンドであるFASLによるT細胞アポトーシ

図6 FASは間葉系幹細胞のケモカイン分泌に関与する¹⁸⁾

FAS欠損幹細胞では培養上澄中に含まれるケモカインの著明な減少が観察された。FAS遺伝子導入により培養上澄中のケモカイン量が回復したことから, FASはケモカイン分泌に関与することが示唆された。

ス誘導作用を増強しているという非常に興味深い機能を発揮していることが判明した(図7)。

V. 免疫調節能からみた間葉系幹細胞の多様性

骨髄由来間葉系幹細胞は形態的に多様性を持つ集団である。そのため, 分化度の違いにより幹細胞としての機能は均一とは言えない。実際に, 同じ骨髄由来間葉系幹細胞であっても長管骨と下顎骨から単離した幹細胞の骨分化機能には大きな差があると報告されている⁶⁴⁾。さらには, マウス大腿骨骨髄の中心部から単離した細胞と, 骨端部骨髄から単離した細胞を比較した場合でさえも, 骨分化には差が無いものの, 骨端部骨髄由来間葉系幹細胞の方が免疫調節能に関しては

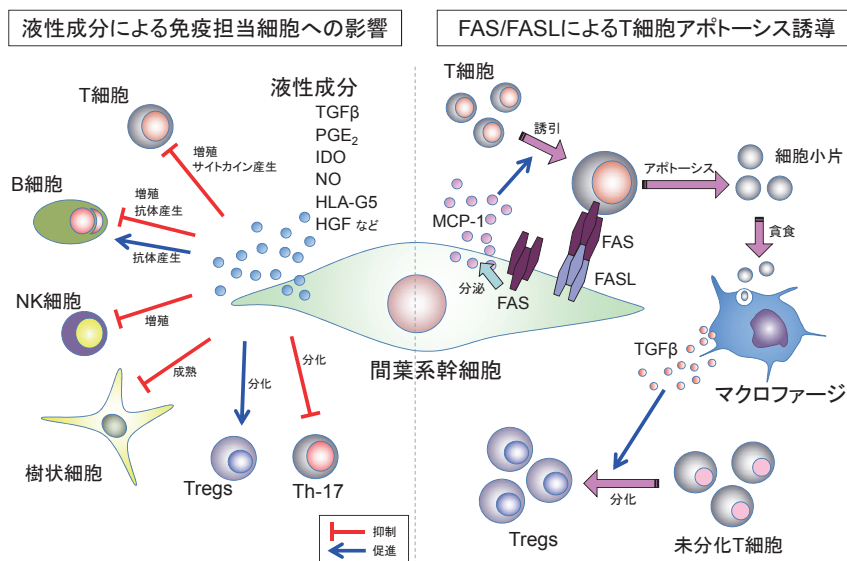


図7 間葉系幹細胞の免疫調節機能

間葉系幹細胞産生の液性成分による免疫担当細胞への影響(左)とFASLによるT細胞アポトーシス誘導からマクロファージを介した免疫寛容獲得(右)。

Tregs 誘導効果が高く、出血性大腸炎疾患モデルに対しても高い治療効果を示した⁶⁵⁾。別の報告では、骨髓播種後、培養皿に付着しにくい細胞が存在し、それらの細胞は、通常の付着幹細胞と同程度の骨芽細胞や脂肪細胞に分化する多分化能を有しているだけでなく、高い免疫調節能を有しているとしている⁶⁶⁾。さらに、これまで抗炎症作用とされてきた間葉系幹細胞の免疫調節能に逆の炎症性サイトカインの一つである IL-17 を産生する集団が存在し、それらは Tregs の誘導を促進せず、免疫寛容も誘導しないとの報告もある⁶⁷⁾。このように、間葉系幹細胞の中でも免疫調節能に差があり、免疫調節能発現の制御機構の詳細は未だ明らかにされていない。しかし、最近の我々の研究では、間葉系幹細胞の FASL 発現はテロメラーゼ逆転写酵素、β カテニン、BRG-1 タンパクの複合体により制御されていることが明らかとなり、テロメラーゼ活性の高い間葉系幹細胞は、より高い免疫調節能を有していることがわかった⁶⁸⁾。

VI. 間葉系幹細胞基盤免疫療法の今後と宿主間葉系幹細胞の応用

前述のように、間葉系幹細胞の多様性から、全身性投与療法の十分な治療効果が得られない場合や、移植幹細胞の単離・培養、純度の維持など恒常的に臨床応用するにはクリアすべき大きな関門が存在していることも事実である。これらの問題に対して、免疫調節

能の高い間葉系幹細胞を従来よりも低い濃度で移植するといった改善策⁶⁶⁾が講じられるようになった。さらに近年では扱いに注意が必要な間葉系幹細胞の体外拡大・移植よりも、宿主に内在する間葉系幹細胞を動員し、組織再生や免疫療法に応用しようとする試み⁶⁹⁾がなされている。

VII. まとめ

本稿では、間葉系幹細胞移植による全身性免疫疾患の免疫寛容獲得の詳細なメカニズムについて紹介したが、T細胞アポトーシスから Tregs 誘導のカスケードが免疫寛容獲得メカニズムの全てではなく、前述の液性成分による免疫調節や幹細胞を取り巻くニッチなど様々な因子が複雑に関与していることは言うまでもない。しかしながら、これらの複雑なメカニズムを紐解くことにより、より安全で、効率の高い再生医療や自己免疫疾患の治療法につながると確信している。

文 献

- 1) Friedenstien AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. Cell Tissue Kinet 1970; 3(4): 393-403.
- 2) Williams JT, Southerland SS, Souza J, Calcutt AF, Cartledge RG. Cells isolated from adult human skeletal muscle capable of differentiating into multiple mesodermal phenotypes. Am Surg 1999; 65(1): 22-26.
- 3) Toma JG, Akhavan M, Fernandes KJ, Barnabé-Heider

- F, Sadikot A, Kaplan DR et al. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. *Nat Cell Biol* 2001; 3(9): 778-784.
- 4) Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001; 7(2): 211-228.
- 5) Erices A, Conget P, Minguell JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol* 2000; 109(1): 235-242.
- 6) Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2000; 97(25): 13625-13630.
- 7) Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004; 364(9429): 149-155.
- 8) Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PloS One* 2006; 1: e79.
- 9) Zhang Q, Shi S, Liu Y, Uyanne J, Shi Y, Shi S et al. Mesenchymal stem cells derived from human gingiva are capable of immunomodulatory functions and ameliorate inflammation-related tissue destruction in experimental colitis. *J Immunol* 2009; 183(12): 7787-7798.
- 10) Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284(5411): 143-147.
- 11) Reyes M, Lund T, Lenvik T, Aguiar D, Koodie L, Verfaillie CM. Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells. *Blood* 2001; 98(9): 2615-2625.
- 12) Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, Ferrer K, McIntosh K, Patil S et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp Hematol* 2002; 30(1): 42-48.
- 13) Sun L, Akiyama K, Zhang H, Yamaza T, Hou Y, Zhao S et al. Mesenchymal stem cell transplantation reverses multiorgan dysfunction in systemic lupus erythematosus mice and humans. *Stem Cells* 2009; 27(6): 1421-1432.
- 14) Yamaza T, Kentaro A, Chen C, Liu Y, Shi Y, Gronthos S et al. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Stem Cell Res Ther* 2010; 1(1): 5. doi: 10.1186/scrt5.
- 15) Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, Benvenuto F, Bonanni I, Gerdoni E et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood* 2005; 106(5): 1755-1761.
- 16) Gonzalez MA, Gonzalez-Rey E, Rico L, Buscher D, Delgado M. Treatment of experimental arthritis by inducing immune tolerance with human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Arthritis Rheum* 2009; 60(4): 1006-1019.
- 17) Park MJ, Park HS, Cho ML, Oh HJ, Cho YG, Min SY et al. Transforming growth factor beta-transduced mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune arthritis through reciprocal regulation of Treg/Th17 cells and osteoclastogenesis. *Arthritis Rheum* 2011; 63(6): 1668-1680.
- 18) Akiyama K, Chen C, Wang D, Xu X, Qu C, Yamaza T et al. Mesenchymal-stem-cell-induced immunoregulation involves FAS-ligand-/FAS-mediated T cell apoptosis. *Cell stem cell* 2012; 10(5): 544-555.
- 19) Zhao Y, Wang L, Jin Y, Shi S. Fas ligand regulates the immunomodulatory properties of dental pulp stem cells. *J Dent Res* 2012; 91(10): 948-954.
- 20) Lee RH, Seo MJ, Reger RL, Spees JL, Pulin AA, Olson SD et al. Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006; 103(46): 17438-17443.
- 21) Urbán VS, Kiss J, Kovács J, Gócsa E, Vas V, Monostori E et al. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem Cells* 2008; 26(1): 244-253.
- 22) Fiorina P, Jurewicz M, Augello A, Vergani A, Dada S, La Rosa S et al. Immunomodulatory function of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in experimental autoimmune type 1 diabetes. *J Immunol* 2009; 183(2): 993-1004.
- 23) Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Gotherstrom C, Hassan M, Uzunel M et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004; 363(9419): 1439-1441.
- 24) Prasad VK, Lucas KG, Kleiner GI, Talano JA, Jacobsohn D, Broadwater G et al. Efficacy and safety of ex vivo cultured adult human mesenchymal stem cells (Prochymal) in pediatric patients with severe refractory acute graft-versus-host disease in a compassionate use study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17(4): 534-541.
- 25) Perez-Simon JA, Lopez-Villar O, Andreu EJ, Rifon J, Muntion S, Campelo MD et al. Mesenchymal stem cells expanded in vitro with human serum for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease: results of a phase I/II clinical trial. *Haematologica* 2011; 96(7): 1072-1076.
- 26) Baron F, Lechanteur C, Willems E, Bruck F, Baudoux E, Seidel L et al. Cotransplantation of mesenchymal stem cells might prevent death from graft-versus-host disease (GVHD) without abrogating graft-versus-tumor effects after HLA-mismatched allogeneic transplantation following nonmyeloablative conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16(6): 838-847.
- 27) Zhou H, Guo M, Bian C, Sun Z, Yang Z, Zeng Y et al. Efficacy of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of sclerodermatous chronic

- graft-versus-host disease: clinical report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16(3): 403-412.
- 28) Liang J, Zhang H, Hua B, Wang H, Lu L, Shi S et al. Allogeneic mesenchymal stem cells transplantation in refractory systemic lupus erythematosus: a pilot clinical study. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(8): 1423-1429.
 - 29) Wang D, Akiyama K, Zhang H, Yamaza T, Li X, Feng X et al. Double allogeneic mesenchymal stem cells transplantations could not enhance therapeutic effect compared with single transplantation in systemic lupus erythematosus. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 273291.
 - 30) Carrion F, Nova E, Ruiz C, Diaz F, Inostroza C, Rojo D et al. Autologous mesenchymal stem cell treatment increased T regulatory cells with no effect on disease activity in two systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2010; 19(3): 317-322.
 - 31) Connick P, Kolappan M, Crawley C, Webber DJ, Patani R, Michell AW et al. Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary progressive multiple sclerosis: an open-label phase 2a proof-of-concept study. *Lancet Neurol* 2012; 11(2): 150-156.
 - 32) Lufriu S, Sepulveda M, Blanco Y, Marin P, Moreno B, Berenguer J et al. Randomized placebo-controlled phase II trial of autologous mesenchymal stem cells in multiple sclerosis. *PLoS One* 2014; 9(12): e113936.
 - 33) Lublin FD, Bowen JD, Huddleston J, Kremenchutzky M, Carpenter A, Corboy JR et al. Human placenta-derived cells (PDA-001) for the treatment of adults with multiple sclerosis: a randomized, placebo-controlled, multiple-dose study. *Mult Scler Relat Disord* 2014; 3(6): 696-704.
 - 34) Reinders ME, de Fijter JW, Roelofs H, Bajema IM, de Vries DK, Schaapherder AF et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells for the treatment of allograft rejection after renal transplantation: results of a phase I study. *Stem Cells Transl Med* 2013; 2(2): 107-111.
 - 35) Perico N, Casiraghi F, Gotti E, Introna M, Todeschini M, Cavinato RA et al. Mesenchymal stromal cells and kidney transplantation: pretransplant infusion protects from graft dysfunction while fostering immunoregulation. *Transpl Int* 2013; 26(9): 867-878.
 - 36) Ciccocioppo R, Bernardo ME, Sgarella A, Maccario R, Avanzini MA, Ubezio C et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in the treatment of fistulising Crohn's disease. *Gut* 2011; 60(6): 788-798.
 - 37) Mannon PJ. Remestemcel-L: human mesenchymal stem cells as an emerging therapy for Crohn's disease. *Expert Opin Bio Ther* 2011; 11(9): 1249-1256.
 - 38) Mayer L, Pandak WM, Melmed GY, Hanauer SB, Johnson K, Payne D et al. Safety and tolerability of human placenta-derived cells (PDA001) in treatment-resistant Crohn's disease: a phase 1 study. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19(4): 754-760.
 - 39) Forbes GM, Sturm MJ, Leong RW, Sparrow MP, Segarajasingam D, Cummins AG et al. A phase 2 study of allogeneic mesenchymal stromal cells for luminal Crohn's disease refractory to biologic therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12(1): 64-71.
 - 40) Hare JM, Traverse JH, Henry TD, Dib N, Strumpf RK, Schulman SP et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54(24): 2277-2286.
 - 41) Glennie S, Soeiro I, Dyson PJ, Lam EW, Dazzi F. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells. *Blood* 2005; 105(7): 2821-2827.
 - 42) Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, Milanese M, Longoni PD, Matteucci P et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood* 2002; 99(10): 3838-3843.
 - 43) Meisel R, Zibert A, Laryea M, Gobel U, Daubener W, Dilloo D. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation. *Blood* 2004; 103(12): 4619-4621.
 - 44) Ren G, Zhang L, Zhao X, Xu G, Zhang Y, Roberts AI et al. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide. *Cell stem cell* 2008; 2(2): 141-150.
 - 45) Bingisser RM, Tilbrook PA, Holt PG, Kees UR. Macrophage-derived nitric oxide regulates T cell activation via reversible disruption of the Jak3/STAT5 signaling pathway. *J Immunol* 1998; 160(12): 5729-5734.
 - 46) Carosella ED, Moreau P, Le Maout J, Le Discorde M, Dausset J, Rouas-Freiss N. HLA-G molecules: from maternal-fetal tolerance to tissue acceptance. *Adv Immunol* 2003; 81: 199-252.
 - 47) Selmani Z, Naji A, Zidi I, Favier B, Gaiffe E, Obert L et al. Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress T lymphocyte and natural killer function and to induce CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺ regulatory T cells. *Stem Cells* 2008; 26(1): 212-222.
 - 48) Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, Giunti D, Cappiello V, Cazzanti F et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood* 2006; 107(1): 367-372.
 - 49) Deng W, Han Q, Liao L, You S, Deng H, Zhao RC. Effects of allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells on T and B lymphocytes from BXSB mice. *DNA Cell Biol* 2005; 24(7): 458-463.
 - 50) Rasmusson I, Le Blanc K, Sundberg B, Ringden O. Mesenchymal stem cells stimulate antibody secretion in human B cells. *Scand J Immunol* 2007; 65(4): 336-343.
 - 51) Traggiai E, Volpi S, Schena F, Gattorno M, Ferlito F, Moretta L et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce both polyclonal expansion and differentiation of B cells isolated from healthy donors and systemic lupus erythematosus patients. *Stem Cells* 2008; 26(2): 562-569.
 - 52) Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem

- cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005; 105(4): 1815-1822.
- 53) Ryan JM, Barry F, Murphy JM, Mahon BP. Interferon-gamma does not break, but promotes the immunosuppressive capacity of adult human mesenchymal stem cells. *Clin Exp Immunol* 2007; 149(2): 353-363.
 - 54) Németh K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, Mayer B, Parmelee A, Doi K et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat Med* 2009; 15(1): 42-49.
 - 55) Spaggiari GM, Abdelrazik H, Becchetti F, Moretta L. MSCs inhibit monocyte-derived DC maturation and function by selectively interfering with the generation of immature DCs: central role of MSC-derived prostaglandin E2. *Blood* 2009; 113(26): 6576-6583.
 - 56) Tipnis S, Viswanathan C, Majumdar AS. Immunosuppressive properties of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: role of B7-H1 and IDO. *Immunol Cell Biol* 2010; 88(8): 795-806.
 - 57) English K, Ryan JM, Tobin L, Murphy MJ, Barry FP, Mahon BP. Cell contact, prostaglandin E(2) and transforming growth factor beta 1 play non-redundant roles in human mesenchymal stem cell induction of CD4+CD25(High) forkhead box P3+ regulatory T cells. *Clin Exp Immunol* 2009; 156(1): 149-160.
 - 58) Ghannam S, Pene J, Torcy-Moquet G, Jorgensen C, Yssel H. Mesenchymal stem cells inhibit human Th17 cell differentiation and function and induce a T regulatory cell phenotype. *J Immunol* 2010; 185(1): 302-12.
 - 59) Augello A, Tasso R, Negrini SM, Amateis A, Indiveri F, Cancedda R et al. Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway. *Eur J Immunol* 2005; 35(5): 1482-1490.
 - 60) Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155(3): 1151-1164.
 - 61) Gonzalez-Rey E, Gonzalez MA, Varela N, O'Valle F, Hernandez-Cortes P, Rico L et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells reduce inflammatory and T cell responses and induce regulatory T cells in vitro in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(1): 241-248.
 - 62) Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, Benvenuto F, Bonanni I, Gerdoni E et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood* 2005; 106(5): 1755-1761.
 - 63) Perruche S, Zhang P, Liu Y, Saas P, Bluestone JA, Chen W. CD3-specific antibody-induced immune tolerance involves transforming growth factor-beta from phagocytes digesting apoptotic T cells. *Nat Med* 2008; 14(5): 528-535.
 - 64) Akintoye SO, Lam T, Shi S, Brahim J, Collins MT, Robey PG. Skeletal site-specific characterization of orofacial and iliac crest human bone marrow stromal cells in same individuals. *Bone* 2006; 38(6): 758-768.
 - 65) Siclari VA, Zhu J, Akiyama K, Liu F, Zhang X, Chandra A et al. Mesenchymal progenitors residing close to the bone surface are functionally distinct from those in the central bone marrow. *Bone* 2013; 53(2): 575-586.
 - 66) Akiyama K, You YO, Yamaza T, Chen C, Tang L, Jin Y et al. Characterization of bone marrow derived mesenchymal stem cells in suspension. *Stem Cell Res Ther* 2012; 3(5): 40.
 - 67) Yang R, Liu Y, Kelk P, Qu C, Akiyama K, Chen C et al. A subset of IL-17(+) mesenchymal stem cells possesses anti-Candida albicans effect. *Cell Res* 2013; 23(1): 107-121.
 - 68) Chen C, Akiyama K, Yamaza T, You YO, Xu X, Li B et al. Telomerase governs immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells by regulating FAS ligand expression. *EMBO Mol Med* 2014; 6(3): 322-334.
 - 69) Aikawa E, Fujita R, Kikuchi Y, Kaneda Y, Tamai K. Systemic high-mobility group box 1 administration suppresses skin inflammation by inducing an accumulation of PDGFR α (+) mesenchymal cells from bone marrow. *Scientific Reports* 2015; 5: 11008.

著者連絡先：秋山謙太郎

〒700-8525 岡山市北区鹿田町 2-5-1

Tel: 086-235-6682

Fax: 086-235-6684

E-mail: akentaro@md.okayama-u.ac.jp