

論文の内容の要旨

氏名：西川 英里

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：胎児付属物由来幹細胞による造血幹細胞維持能の比較解析

【背景】

臍帯血移植では生着不全の克服が重要な課題であり、間葉系幹細胞 (MSC) と臍帯血の同時移植により生着不全を回避したとの報告がある。胎児付属物由来幹細胞は、採取に伴う侵襲がなく臍帯血と同一ドナーからの調整も可能であるため、生着不全予防を目的とした細胞治療の新たな細胞源として期待できる。

【目的】

ヒト臍帯、胎盤から単離、培養増殖させた細胞について、造血幹細胞ニッチマーカーの発現や、造血幹細胞の維持能を解析し、造血幹細胞ニッチの機能を有する細胞の同定を試みた。

【方法】

満期分娩臍帯と胎盤組織の凍結切片に対し、造血幹細胞ニッチマーカー SDF-1 に対する免疫染色を行い、この発現をもとに、造血幹細胞維持能に差があると予想される 3 種類の組織（胎盤羊膜上皮、胎盤羊膜間質、臍帯 Wharton's-jelly）を選択し、それぞれから胎盤羊膜上皮幹細胞 (AM-Epi) と胎盤羊膜間葉系幹細胞 (AM-Mes)、Wharton's-jelly 間葉系幹細胞 (WJ-MSC) を調製した。それぞれの細胞に対し、①免疫細胞染色による SDF-1、Nestin、SSEA3、SSEA4 の発現解析②フローサイトメーターによる細胞表面マーカー解析③臍帯血 CD34 陽性細胞と共培養による造血幹細胞維持能および CFU-GM コロニー形成能を比較検討した。

【結果】

免疫組織化学染色の結果、SDF-1 は臍帯羊膜、臍帯 WJ、胎盤羊膜、胎盤絨毛に陽性細胞が検出され、特に cytokeratin19 陽性の臍帯・胎盤羊膜上皮で高発現を示した。AM-Epi、AM-Mes、WJ-MSC をそれぞれ調製し、細胞免疫染色を行った結果、単離直後の細胞は SDF-1、Nestin、SSEA4 の発現が認められ、発現強度は AM-Epi > WJ-MSC >> AM-Mes の順であった。SDF-1、Nestin、SSEA4 の発現は継代培養により減弱し、P3 では細胞間に差異が見られなくなった。フローサイトメーターによる解析の結果、P2 の AM-Epi、AM-Mes、WJ-MSC はいずれも CD90、CD105、CD73 陽性、CD45、CD34、CD11b、CD19、HLA-DR 陰性を示し、MSC の minimal criteria を満たすプロファイルを示した。臍帯血 CD34 陽性細胞との共培養において、臍帯血細胞の細胞数は AM-Epi 5.8 倍、AM-Mes 7.6 倍、WJ-MSC 6.5 倍の増加を認めたのに対し、フィーダー細胞のない陰性コントロール (NC) では、細胞増加はほとんど起こらなかった。5 日間共培養後の、CD34⁺CD45⁺細胞の割合は、AM-Epi 37.8%、AM-Mes 38.8%、WJ-MSC 27.3%、Fibroblast 27.4%であった。CFU-GM コロニー数は、AM-Epi 255.5±21.6、AM-Mes 246.3±28.5、WJ-MSC 118.3±11.8、Fibroblast 147.8±19.0、NC 121.3±6.5 であった。統計解析を行った結果、AM-Epi および AM-Mes は、WJ-MSC、fibroblast、NC と比べ CFU-GM 数が有意 ($p < 0.05$) に高値を示した。

【結論】

AM-Epi、AM-Mes は WJ-MSC に比べ、高い造血幹細胞維持能を示した。AM-Epi、AM-Mes などの胎児付属物由来幹細胞は、造血幹細胞移植時の生着率向上を目的とした細胞治療の細胞源として臨床応用が期待できると考えられた。