

論文の内容の要旨

氏名：大 熊 啓 嗣

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：臍帯血生着不全モデルマウスを用いたヒト胎児付属物由来幹細胞の生着促進効果の検討

【目的】臍帯血移植において生着不全は重要な問題である。近年、間葉系幹細胞(MSC)を共移植することにより臍帯血細胞の生着不全を回避できることが報告されている。本研究では、臍帯血移植後の生着促進を目的とした MSC の至適細胞ソースを同定するため、同一ドナー胎児付属物より、胎盤羊膜間質由来(AMC)、胎盤上皮由来(AEC)、臍帯 Whartons' jelly 由来(WJ-MSC)MSC を調製し、in vivo における生着促進作用を検討した。

【方法】計 48 匹の NOD/SCID マウスに放射線照射(3 Gy)を行った後、ランダムに 4 群（コントロール群、AMC 群、AEC 群、WJ-MSC 群）に分け、それぞれ 24 時間後にヒト臍帯血 CD34+細胞(5×10^4)単独、もしくはヒト臍帯血 CD34+細胞(5×10^4)と AMC、AEC および WJ-MSC(各 5×10^5)を尾静脈より投与した。12 週後にマウスを安楽死させた後、大腿骨を摘出し、骨髓細胞を採取した。骨髓細胞中のヒト血液細胞の割合をフローサイトメーターを用いて解析した。また、MSC の体内動態実験として NOD/SCID マウスに放射線照射を行った後、Qtracker® で蛍光標識した WJ-MSC を尾静脈より投与し、24 時間後に大腿骨骨髓や肺における Qtracker+細胞の同定を試みた。さらに、3 種類の MSC の培養上清の SDF-1 および HGF タンパク質濃度を ELISA 法にて測定した。

【結果】AMC、AEC および WJ はいずれも Passage 3 の時点において MSC の形質に一致する細胞表面マーカーを発現することを確認した。ヒト臍帯血生着不全モデルマウスに対する共移植実験では、WJ-MSC 群では、Control 群に比べ、有意にヒトヒト CD45+細胞、CD34+細胞、CD45+/CD19+細胞の生着が増加した ($p < 0.05$)。また、WJ-MSC の体内動態実験では、移植した WJ-MSC は肺には検出されたが、骨髓内には検出されなかった。

培養上清中の分泌タンパク質の解析では、SDF-1 濃度は、AEC、AMC、WJ-MSC の間で明らかな差は認められなかった。HGF 濃度は、AEC、AMC に比べ WJ-MSC で有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

【考察】WJ-MSC の投与はヒト臍帯血生着不全モデルマウス移植実験における生着率を増加させた。WJ-MSC は投与後に骨髓内には移行せず、肺にトラップされ種々のサイトカインを放出し、生着促進作用を生み出している事が示唆された。臍帯血と WJ-MSC の同時移植は臍帯血移植における生着不全を予防する有効な治療法となりうる可能性が考えられた。