

論文の内容の要旨

氏名：谷 川 俊太郎

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：調製法の違いによるヒト臍帯由来間葉系幹細胞の形質および機能比較

（背景・目的）臍帯 Wharton's Jelly に由来する間葉系幹細胞(WJ-MSC)は、安全で有効性の高い細胞治療用細胞ソースとして注目されている。WJ-MSC の調製法として酵素法と **Explant** 法があるが、これらの調製法の違いにより、作製された MSC の形質や機能にどのような影響が生じるか明らかになっていない。本研究の目的は、酵素法と **Explant** 法により調製された WJ-MSC の形質、増殖能、多分化能、免疫制御関連遺伝子の発現を解析し、調製法の違いによる WJ-MSC の治療用細胞としての性能を比較評価することである。

（方法）ヒト臍帯は妊娠 37~39 週に予定帝王切開を施行した正期産の健康な胎児から採取した。酵素法、**Explant** 法で調整した WJ-MSC を用いて DNA マイクロアレイ解析、細胞表面抗原プロファイル、Colony-forming unit-fibroblast (CFU-F)アッセイ、細胞増殖能、*In vitro* における多分化能、各細胞の免疫制御関連因子の発現解析を行い、両調製法によって得られた細胞を比較した。

（結果）DNA マイクロアレイ解析では、酵素法と **Explant** 法で調製した WJ-MSC は非常に近似した遺伝子発現プロファイルを示し、階層的クラスタリング解析でも非常に距離に近い群として分類された。細胞表面抗原プロファイルは両者ともに MSC の minimal criteria に一致するプロファイルであった。CFU-F アッセイでは第 4 継代において、**Explant** 法に比べ、酵素法でコロニー形成率が低下する傾向が認められた。細胞増殖能解析では酵素法、**Explant** 法ともにほぼ同じ増殖曲線を示し、細胞倍加時間も両群で類似した値が得られた。多分化能解析では、どちらの細胞も脂肪細胞、軟骨細胞への分化が認められたが、骨分化誘導ではどちらの細胞もカルシウム沈着を示す成熟した骨芽細胞は認められなかった。免疫制御関連因子の解析では繊維芽細胞に対し、酵素法、**Explant** 法で調製した WJ-MSC で発現が有意に高い免疫制御関連因子を複数認めたが、酵素法、**Explant** 法間での有意差を認める免疫制御関連因子は認めなかった。

（結論）酵素法と **Explant** 法により調製された WJ-MSC 遺伝子発現プロファイルは非常に近似しており、それぞれの細胞の増殖能、自己複製能、多分化能、免疫制御関連遺伝子の発現に大きな違いを認めなかった。以上の結果より **Explant** 法でも酵素法と同様の多能性を有する WJ-MSC が調整できることが明らかになった。