基礎研究：血液内科学講座

テーマ：脂肪組織由来間葉系幹細胞を含有する臍帯血移植用細胞製剤

■ 背景

造血幹細胞移植は白血病などの難治性血液疾患に対する根治療法である。移植に用いる細胞源としては、骨髄・末梢血幹細胞・臍帯血の3つがあるが、中でも臍帯血を用いた移植が近年増加している。臍帯血は本来廃棄されるはずの臍帯から採取するため、提供者への身体的負担がない。また、凍結保存された臍帯血は、移植施設から申し込みがあると品質確認の上、1週間程度で出庫可能なため、速やかに移植を実施することができる。一方、1本の臍帯から採取できる細胞数には限りがあるため、生着不全や造血回復の遅れが生じやすい。これらは出血や感染症を招き、ときに生命に関わる。また、一定の細胞数に満たない臍帯血は利用されず、貴重なリソースが廃棄されてしまうという課題も生じている。

■ 研究成果

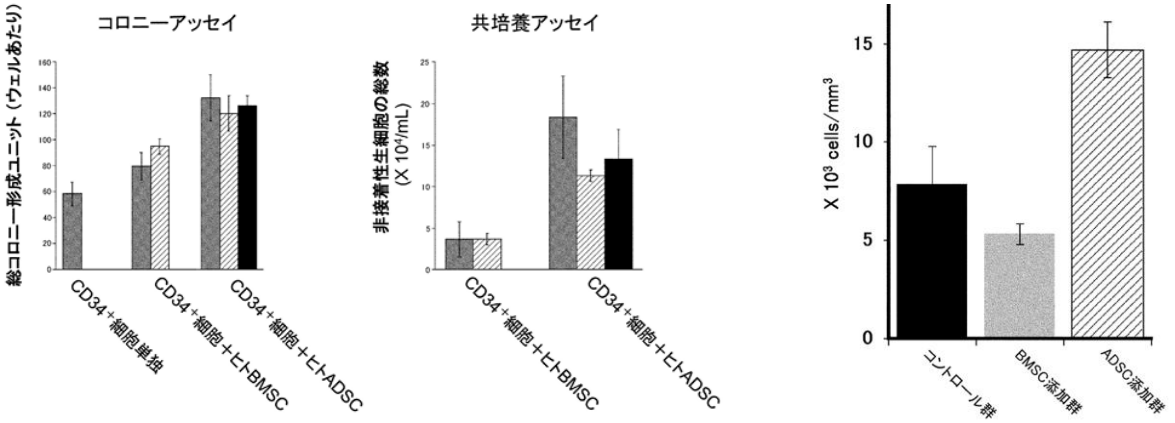
脂肪組織由来間葉系幹細胞（ADSC）は、骨細胞、軟骨細胞、心筋細胞などさまざまな細胞への分化能を有し、組織再建のほか、種々の難治性疾患への治療応用が期待されている。我々は、骨髄移植マウスモデルを用いてADSCの効果を検討した。その結果、生着を早める効果、および少ない造血幹細胞数でも生着を可能にする効果があることを明らかにした。さらに、ヒトADSCが末梢血由来造血幹細胞に対して高い支持能力を発揮することも明らかにした。

骨髄由来MSC（BMSC）は2人から、ADSCは3人からそれぞれ樹立した。細胞の表面マーカーを解析した結果、90%以上がCD45陰性、CD73陽性、CD90陽性、CD105陽性であり、MSCであることが確認された。

【コロニーアッセイ】 メチルセルロース培地に①ヒト臍帯CD34陽性造血幹細胞単独、②同細胞＋ヒトBMSC、或いは③同細胞＋ヒトADSCを添加し、37℃、5%CO2下で8日間培養した。その後、倒立顕微鏡を用いてコロニーの種類及び数を評価した。ヒトADSCが臍帯CD34陽性造血幹細胞に対しても支持能力を持つことが確認された（下左図）。

【共培養アッセイ】 ヒトBMSC又はヒトADSCに、ヒト臍帯CD34陽性造血幹細胞を添加した。3週間継代培養し、分化した白血球数をカウントした。白血球への分化促進作用は、ADSCの方がBMSCよりも高かった（下中図）。

【マトリゲルアッセイ】 Cytotell red標識ヒト臍帯血とヒトBMSC又はヒトADSCをマトリゲルに混合し、NOD/SCID免疫不全マウスの側腹部に皮下投与した。48時間後にマウスを屠殺し、固体化したマトリゲルを取り出したところ、ADSCの支持能力が最も高いことが確認された（下右図）。



【ブタを用いた安全性試験】 ミニブタの腸骨骨髄内に、樹立したADSCを循環動態モニタリング下に輸注した。塞栓等の急性障害は認めず、臓器障害やADSCによる腫瘍形成等も認めなかった。また、血液・血液生化学検査にも大きな変動も認めなかった。

■ 企業との協働

本研究の成果は特許登録されている（特許第7166514号）。この造血幹細胞移植用製剤の実用化に向けて協働して下さる企業を求めています。

■血液内科学講座のホームページ
https://shiga-hematology.com/