

論 文 内 容 要 旨

報告番号	乙 農 第 1 号	氏 名	菊地 健志
学位論文題目	Study on methods of suppression of cell aggregation and utilization of pigs as cell source in mesenchymal stem cell therapy (間葉系幹細胞治療における細胞凝集抑制法と細胞ソースとしてのブタ利用に関する研究)		
<p>内容要旨</p> <p>間葉系幹細胞 (MSCs) 治療の更なる発展のためには、投与時の安全性と安定した細胞供給源を確保することが必須である。本研究ではMSCs血管内投与時の塞栓リスクを低減するためにMSCs保存中に細胞が凝集する条件とその凝集を抑制する条件を検討した。また、MSCsの供給源として安定生産が可能なブタに注目した。ブタをMSCs供給源として用いる際には感染症と異種反応の制御が課題となるため、感染制御管理下で飼育された臨床グレードブタ及び異種抗原ノックアウト (KO) ブタからMSCsを樹立しその特徴を明らかにすることを試みた。同時にMSCs安定供給に重要な由来組織の凍結保存についても検討を行った。</p> <p>ヒトMSCsの保存液として5%トレハロース3%デキストラン添加乳酸リンゲル液を用いることで、5℃または25℃で24時間保存しても保存前と同等の細胞生存率を維持することができた。しかし、25℃保存条件では5℃では見られなかった細胞の凝集が観察された。25℃保存条件における凝集抑制法を検討した結果、細胞回収時のトリプシン処理時間の延長が効果的であった。また、細胞凝集の発生と保存液中の酸素分圧に関係があることを見出した。保存容器ヘッドスペースの窒素ガス置換や保存時の細胞濃度および懸濁液量を増加させるなどの簡便な手法で液中の酸素分圧を低下させることができ、細胞凝集を抑制できることを示した。</p> <p>臨床グレードブタを用いたMSCs樹立検討では、4年以上凍結保存した豚島からでもMSCs樹立が可能であった。臨床グレードと非臨床グレードのブタ豚島由来MSCsを比較した結果、表面マーカーや増殖率、細胞直径などの特徴に大きな違いは観察されなかった。またゲノム編集で作成したGal-KOブタから骨髄由来MSCsを樹立した。野生型ブタの骨髄由来MSCsと比較すると細胞直径が僅かに大きくコロニー形成率が低いなどの差が見られたものの、表面マーカーや分化能、増殖率、血管新生や免疫抑制に関わるmRNA発現量などに大きな違いは観察されなかった。</p> <p>本研究によりMSCsの血管内投与時の安全性確保に重要な細胞凝集抑制方法を示すことができた。さらに、臨床グレードブタ凍結保存豚島およびGal-KOブタ骨髄から樹立したMSCsの特徴を明らかとし、MSCs供給源として臨床グレードおよびGal-KOブタが使用できる可能性を示した。本研究の結果はMSCsを用いた治療法を進展させるために有用である。</p>			

備考 注は、徳島大学学位規則第13条第3項に定める学位記の様式(別表第2, 別表第3及び別表第4)の注に示す頭文字を記入する。