

氏 名（本籍）	崔 <small>サイ</small> <small>ケン</small> 硯
学 位 の 種 類	博 士（医 学）
学 位 記 番 号	医 博 第 1 3 4 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 条 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 専 攻	東 北 大 学 大 学 院 医 学 系 研 究 科 （博士課程）内科学系専攻
学 位 論 文 題 目	臍帯血造血幹細胞の造血能とその細胞外マトリックス反応性の研究 －骨髓造血幹細胞との比較検討－

（主 査）

論 文 審 査 委 員	教 授 飯 沼 一 宇	教 授 今 野 多 助
	教 授 帯 刀 益 夫	

論文内容要旨

【目 的】

血液造血幹細胞 (Hematopoietic Stem cell, HSC) は、骨髄 (BM) やサイトカイン刺激末梢血 (PB) のみならず、胎児臍帯血 (Cord Blood, CB) にも存在している。近年、この CB 由来造血幹細胞 (Cord Blood Stem Cell, CBSC) を用いた造血幹細胞移植が開始され、骨髄移植に比し、(1)少数の移植細胞数でも生着する、(2)サイトカイン投与の生着促進効果が乏しいなどの相違点が指摘されている。これらの相違は、CBSC が胎生期造血の特性を遺しており、分化増殖能・自己複製能や骨髄ホーミングにおける細胞外マトリックス反応性等において骨髄造血幹細胞 (BMSC) とは異なった特異的性質を保有していることと関連していると推測されるが、その詳細は未だ十分解明されていない。本研究は、この様な CBSC の特異性の基礎的理解を目的として、BMSC との比較において、CBSC の造血能とその細胞外マトリックス反応性の相違を解析した。

【研究材料と方法】

研究材料は満期新生児の胎盤静脈血並びに非血液疾患患者の骨髄から、比重遠心法あるいはイムノビーズ法で分離した単核球あるいは CD34 (+) 細胞を用い、コロニー形成能、造血幹細胞表面抗原の発現、並びに Fibronectin (FN) と Collagen (type I) のコロニー形成能と増殖能に対する作用を解析した。コロニー形成能はメチルセルロース法を用い、6 種類サイトカイン (rIL-3, rIL-6, rG-CSF, rGM-CSF, rSCF, rEpo) 存在下に 14 日間培養後、CFU-GM, BFU-E, CFU-Mix を算定した。表面抗原の発現は FACS を用い、CD34 (+) 細胞における HLA-DR, CD38, Thy-1, c-kit の発現を検討した。FN と Collagen (Type I) のコロニー形成能と増殖能に対する作用は、FN あるいは Collagen-coated dish におけるコロニー形成と H3-thymidine up-take を測定し、FN あるいは Collagen (-) 条件の結果と比較検討した。

【結 果】

BMSC と比較して、CBSC は(1)サイトカイン刺激 (-) の条件でも有意に多い CFU-GM コロニーを形成し、さらに Epo, IL-3, SCF 単独刺激に対して有意に CFU-GM の増加を示した ; (2) 複数サイトカイン (SCF, IL-3, IL-6, GM-CSF, G-CSF, Epo) 存在下に有意に高い CFU-Mix コロニー形成能を認めた ; (3)CB の CD34 (+) 細胞 ($0.43 \pm 0.33\%$) は、BM ($1.51 \pm 0.87\%$) と比較し有意に少なかったが、CD34 (+) 細胞中の CD38 (-) あるいは HLA-DR (-) 分画

は有意に高い比率であった；(4)複数サイトカイン（SCF, IL-3, IL-6, GM-CSF, G-CSF, Epo）存在下，FN上で形成されるコロニー構成細胞が拡散し同定可能なコロニー数の減少を認め，この傾向はBMに比べCBにおいて有意に軽度であった。Collagen（type I）もFNと同様に作用した。(5)複数サイトカイン存在下，FNはCB単核球の細胞増殖に抑制的に作用し，BMとは対照的であった。Collagen（type I）もFNと同様な結果であった。

【 考 察 】

CBSCは，BMSCと比較し，(1)より未分化な表面抗原とCFU-Mix形成能を有するHSCをより多く含み，(2)FNやCollagen（type I）により増殖能とコロニー形成能に抑制的作用を受けた。この結果は，CBSCは高い造血能を有する優れたHSC供給源であることを示すとともに，造血微小環境の主要な細胞外マトリックスであるFNやCollagen（type I）の分化・増殖に対する作用がBMSCとは異なる可能性を示唆していると考えられた。

審査結果の要旨

近年白血病やその他の悪性腫瘍に対して、強力な化学療法に加えて造血幹細胞を移植し、生命維持を計る方法が進歩してきている。造血幹細胞は骨髄やサイトカイン刺激末梢血ばかりでなく、胎児臍帯血にも存在している。胎児臍帯血は従来廃棄されていた材料を用いることから、採血に関わる種々の問題点をクリアできると考えられる。そこで胎児臍帯血を造血幹細胞移植の材料として用いることが試みられている。胎児臍帯血は胎児期造血の特性を遺しており、分化増殖能・自己複製能等において骨髄造血幹細胞とは異なった特性を有していると推測されるがその詳細は十分解明されていない。

本研究では胎児造血幹細胞の基礎的理解を目的として骨髄造血幹細胞との相違を明らかにしようとしたものである。満期新生児の胎盤静脈血ならびに非血液疾患患者の骨髄から比重遠心法あるいはイムノビーズ法で分離した単核球あるいはCD34(+)細胞を用いて、コロニー形成能、造血幹細胞表面抗原の発現、Fibronectin, Collagen I型のコロニー形成能と増殖能に対する作用を検討した。

骨髄造血幹細胞に比較して、胎児臍帯血幹細胞はサイトカインを加えない条件でも有意に多いCFU-GMコロニーを形成し、さらにEpo, IL-3, SCF単独刺激に対して有意にCFU-GMの増加を示した。複数サイトカイン存在下に有意に高いCFU-Mixコロニー形成能を認めた。

CD34(+)細胞は骨髄血に比し有意に少なかったが、CD34(+)細胞中のCD38(-)あるいはHLA-DR(-)分画は有意に高い比率であった。複数サイトカイン存在下、Fibronectin上で形成されるコロニー構成細胞が拡散し、固定可能なコロニー数の減少を認め、この傾向は骨髄に比べ、有意に軽度であった。Collagenも同様に作用した。複数サイトカイン存在下、Fibronectinは臍帯血単核球の細胞増殖に抑制的に作用した。

これらの実験結果から、臍帯血幹細胞は骨髄血に比較し、より未分化なCFU-Mix形成能を有する幹細胞を多く含み、高い造血能を示す優れた幹細胞供給源であることを示すものであった。

この研究は今後の材料の豊富な臍帯血による造血幹細胞移植へ道を拓く有意義なものであり、医学博士の学位に値すると考える。