HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ラットdextran sulfate sodium誘発腸炎モデルに対するヒト羊膜由来間葉系幹細胞投与の効果［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	大西, 礼造
Description	配架番号：2136
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11654号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59014
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Reizo_Onishi_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏名　　大　西　礼　造

主査　准教授　北　村　秀　光
審査担当者　副査　教　授　坂　本　直　哉
副査　教　授　清　野　研一郎
副査　教　授　近　藤　　亨

学 位 論 文 題 名

ラット dextran sulfate sodium 誘発腸炎モデルに対するヒト羊膜由来間葉系幹細胞投与の効果
(Human Amnion-Derived Mesenchymal Stem Cell Transplantation Ameliorates Dextran Sulfate Sodium-Induced Severe Colitis in Rats)

近年、様々な領域において再生医療、細胞治療の必要性が高まっており、骨髄、脂肪などに存在する間葉系幹細胞も治療用の細胞ソースとして期待されている。羊膜由来間葉系幹細胞(AMSC)は免疫調整作用を有していることから、炎症性疾患や自己免疫疾患などへの有効な治療法の一つとして国内外で臨床試験が進められるようになってきた。本研究においては、重症クローン病に対する AMSC の同種移植療法の確立を最終目標とし、dextran sulfate sodium(DSS)誘発腸炎モデルラットを使用して、ヒト AMSC 投与による病態の改善効果の検討を行った。また in vitro 評価系において AMSC の抗炎症効果とその作用機序解明を行った。その結果、AMSC の投与により、DSS による強い腸管粘膜障害が抑制することを見い出すとともに、AMSC による炎症局所に集積するマクロファージに対する活性化抑制が関与していることが示された。さらに AMSC の抗炎症効果は NF-κB の核移行を抑制することで発揮する可能性が示唆された。

審査にあたり、まず副査の近藤亨教授より、AMSC が炎症局所に集積し免疫抑制を行うことで病態を改善すると考えるのかについて質問があった。申請者は、静脈投与された AMSC の一部が炎症局所に集積することから、抗炎症効果に寄与する可能性があるが、多くの AMSC は肺・肝臓・脾臓に集積することから、このように全身に存在する AMSC より産生される抗炎症性の因子がより強く炎症部位に影響を及ぼしている可能性が高いと考えていると回答した。続いて、AMSC の Criteria に関する質問があった。申請者は、通常の培養条件下でプラスティックに接着すること、phenotype として CD105・CD73・CD90 が陽性であり CD45・CD34・CD14/CD11b・CD79α/CD19・HLA-DR が陰性であること、in vitro において骨細胞・軟骨細胞・脂肪細胞への多系統への分化が確認されていることの 3 つに該当することであると回答した。

副査の清野研一郎教授より、AMSC の regulatory T cell への影響についての検討に関する質問があった。申請者は、本研究では検討しておらず、今後、さらに検討したいと答えた。続いて、今後、目標である臨床試験へ移行するにあたっての課題について質問があっ

た。申請者は、人への臨床応用であることから、高い品質の細胞製剤の製法や特性解析の他に毒性試験、造腫瘍性などの安全性に関しての検討の必要があり、現在様々な施設や関係機関の協力を頂いてプロジェクトを進めていると回答した。

副査の坂本直哉教授より、DSS 誘発腸炎モデル以外の動物モデルの検討についての質問があった。申請者は、現在 trinitrobenezene sulfonic acid を用いた腸炎モデルでの検討を進めていると回答した。続いて、本研究では AMSC の抗炎症効果を発揮する作用機序として NF-κB の核移行抑制の可能性を指摘しているが、核移行抑制のメカニズムについての質問があった。申請者は、現在検討はしておらず、今後検証したいと回答した。臨床試験への移行を目指す際の基礎研究に関しての課題に関する質問があった。申請者は、間葉系幹細胞(MSC)を用いた臨床試験は世界中で行われているが、臨床研究が基礎研究よりも先行している傾向があり、より詳細な MSC の免疫調節作用のメカニズム解明や投与後の動態や生着に関しての検討が必要であると回答した。

主査の北村秀光准教授より、AMSC を培養して得られる conditioned medium(CM)の免疫調節作用を示しているが、CM を動物モデルに投与した実例はあるのかとの質問があった。申請者は、DSS 腸炎モデルに対し CM を投与し、腸炎の回復を促進する既報があると回答した。また本研究の治療モデルにおける細胞投与数の設定の根拠についての質問があった。申請者は、GVHD に対する MSC 治療の臨床試験では、投与細胞数を 2×10^6cells/kg で設定しているものが多く、200-250g のラットの体重に換算した場合、0.5×10^6cells/body 程度となることから、当初、この投与量での検討を行っていたが、AMSC 投与により病態改善の傾向があることを示すことが出来たが、有意差が認められなかったため、1×10^6cells/body の投与数で検討したところ、本研究の基礎論文に示した結果が認められたとの答弁であった。さらに既報では、非常に多い細胞投与数で MSC の治療効果を示すものが多いが、本研究では臨床研究を意識して検討を行ったものであると回答した。

この論文は、ラット腸炎モデルにおける AMSC 投与による治療効果およびその作用メカニズムを示した点で高く評価され、今後、クローン病患者に対する新たな細胞治療法の開発が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、これまでの大学院博士課程における研究活動の研鑽や単位取得なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。