

審査の結果の要旨

氏名 何 海萍

本研究は、ヒト臍帯ワルトンジェリーから間葉系幹細胞(WJ-MSCs)を分離培養し、その多分化能と免疫抑制作用について解析したものである。前者では、胚性幹細胞 (ES) 特異的マーカーの一つである stage-specific embryonic antigen (SSEA) 3/4 の発現に注目し、WJ-MSCs の増殖分化における意義を検討した。後者では、その免疫抑制作用について in vitro/in vivo の解析を行い、作用機序について検討を加えた。

1. WJ から Explant 法および Collagenase 法により同等量の MSCs を分離できることを示した。両者の SSEA3/4 陽性率を比較し、SSEA4 は長期間培養後も発現を認めるが、SSEA3 は培養初期のみ発現し急速に消失する傾向があることを示した。SSEA4 陽性群と陰性群で性状を比較した結果、増殖速度、骨・脂肪細胞への分化能および Nanog/Oct4/Klf4 の発現に有意差は認めず、さらに SSEA4 陰性細胞は培養経過中に SSEA4 陽性へ転換することがわかった。
2. SSEA4 の発現は培養条件の影響を受ける可能性が示唆された。そこで、培養液中の牛胎児血清(FBS)の濃度と SSEA4 発現について検討したところ、SSEA4 の発現は FBS 濃度依存性に増加し、逆に SSEA3 は FBS 濃度上昇につれて減少した。また、この現象は、骨髄由来 MSCs でも観察された。以上より、SSEA4 は WJ-MSCs の幹細胞マーカーとはならず、培養液中の FBS 濃度に強く影響されることが明らかとなった。なお、その機序については未解明である。
3. WJ-MSCs の免疫抑制作用を、自家および同種の樹状細胞刺激による混合リンパ球反応試験 (MLR) に対する抑制効果を指標として検討した。その結果、WJ-MSCs は自家および同種リンパ球を用いた MLR を強力に抑制し、その作用は HLA 非拘束的であった。
4. WJ-MSCs による免疫抑制作用は、トランスウェルを用いてリンパ球と物理的に隔離すると有意に低下することから、細胞接着の関与が示唆された。
5. 骨髄由来 MSCs の免疫抑制作用を媒介する可溶性分子として知られるインドールアミン酸素添加酵素 (IDO) の特異的阻害剤 (1MT) は、濃度依存性に WJ-MSCs の MLR 抑制作用を阻害した。
6. ヒト T 細胞による異種移植片対宿主病 (GVHD) を発症した免疫不全マウスに WJ-MSCs を静注する生体モデルにおいて、WJ-MSCs を T 細胞と同日に投与することにより GVHD の改善が認められた。

以上より、本論文は、臍帯 WJ-MSCs における SSEA4 発現は培養液中の FBS によって誘導されるため幹細胞マーカーとはならないことを示した。また、WJ-MSCs による免疫抑制作用は HLA 非拘束性であり、可溶性の IDO が重要な役割を担うが、細胞接着も関与することを明らかにし、将来的に WJ-MSCs の GVHD 治療への応用が期待される。従って、本研究は学位の授与に値すると考えられる。