

論文内容要旨

報告番号	乙 先 第 〔 37 号	氏 名	藤田 泰毅
学位論文題目	Study on preservation solutions for therapy with human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells (ヒト脂肪由来間葉系幹細胞治療のための保存液の研究)		
<p>内容要旨</p> <p>抗炎症や免疫調節といった機能を有している間葉系幹細胞は、様々な疾患への適応が期待され、数多くの臨床研究が進められている。これらの治療において間葉系幹細胞が期待される効果を発揮するためには、保存・輸送・投与の間の品質の保持が不可欠である。現在、細胞の投与において、生理食塩液等への懸濁が行われているが、細胞生存率の維持や細胞の沈殿抑制の観点からは必ずしも理想的ではない。そこで、本研究では、臨床応用を想定し、常温保存、冷蔵保存及び凍結保存に利用可能な新規間葉系幹細胞用保存液を設計した。</p> <p>最初に、ヒト脂肪由来間葉系幹細胞 (hADSCs) を用いて、冷蔵又は室温で利用できる保存液の開発を試みた。乳酸リンゲル液は、生理食塩液より細胞生存率維持の観点でhADSCsの保存に適していることを見出した。トレハロースは、タンパク質や細胞膜の安定化剤、細胞の凍害防止剤としての効果が知られているが、本研究では、トレハロースが細胞の冷蔵・室温保存時の細胞生存率維持にも有効であることを見出した。細胞の保存中に細胞は沈降し濃度の均一性が失われるが、血漿増量剤として臨床使用されているデキストラン40を細胞保存液に添加することにより、細胞沈降を抑制することが可能であった。これらの成分について至適濃度の検討を行った結果、細胞懸濁保存液として3%トレハロース5%デキストラン添加乳酸リンゲル液 (LR-3T-5D) を開発した。</p> <p>冷蔵・室温保存より長期間の保存が可能な凍結保存は、off the shelfの供給体制をとりうる点でメリットがある。LR-3T-5Dは、10%Me2SOを添加する場合の凍結保存液基液としても有用であり、-80℃の保存においても液体窒素中の保存と同様な効果が得られた。</p> <p>Me2SOは、凍害防止剤として一般的に使用されているが、副作用を懸念する報告がある。そこで、Me2SOの使用量の減量、洗浄によるMe2SOの除去、Me2SOから他の凍害防止剤への置換の検討を行った。LR-3T-5Dを基液として用いた場合、Me2SOを5%まで減量しても細胞増殖率の維持が可能であった。また、3%トレハロース添加乳酸リンゲル液 (LR-3T) 及びLR-3T-5Dは、洗浄後の細胞生存率への影響が小さく、凍結解凍後の洗浄液として使用可能と考えられた。さらに、プロピレングリコール (PG) により、Me2SOを置換することが可能であり、その至適濃度は2.5-5%であった。4%PG添加LR-3T-5Dによる凍結保存では、4%Me2SO添加LR-3T-5Dより増殖能が高く、保存前のhADSCsと同様な増殖曲線を示した。</p> <p>本研究では、hADSCsの保存について、冷蔵保存、室温保存、Me2SOを用いた</p>			

凍結保存（Me₂SOの減量も含む）、MeSOフリーの凍結保存と、4つの提案を行った。使用する細胞の種類、期待する効果、投与部位により、保存への要件は異なると考えられ、これらの保存方法の中から、適切に選択することで、治療効果の最大化が図れるものと期待している。