

## 一般講演 I

### 『造血幹細胞治療の効果阻害因子』

斉野織恵、小川優子、田口明彦

神戸医療産業都市推進機構 脳循環代謝研究部

臍帯血や骨髄に含まれる造血幹細胞は、再生医療の移植細胞ソースとして利用され、我々研究部においても四肢虚血や脳梗塞への治療効果を非臨床研究、臨床研究にて示してきた。一方で、無効症例が存在することも事実であるため、①CD34 陽性細胞数に付加されるべき有効性指標、②効果阻害因子、の検証が必要だと考えている。今回、効果阻害因子の特定とその定量法に関し、我々研究部でのこれまでの研究成果についてお話させていただく。

造血幹細胞を含む単核球細胞の移植治療は、マウスによる非臨床研究、心筋梗塞に対する二重盲検試験にて効果があると報告された。しかしその後、自動細胞分離装置による分離単核球での臨床試験では治療効果が無かったと報告され、本治療効果についてさらなる議論が必要となった。我々は、装置を使うと採取時に混入する凝集塊を排除できなかったからではないかと考え、脳梗塞マウスによる非臨床研究を行った。その結果、移植細胞に凝集塊由来赤血球が混入すると、貪食目的でミクログリア/マクロファージが障害部位に集積し血管再生を妨げた結果、効果が阻害されることが明らかになった。(Taguchi et al, stroke, 2019)。

さらに効果阻害因子として凝集塊由来赤血球の定量を試み、定量した阻害因子混入による影響を検証した。定量はホスファチジルセリン(“eat me”シグナル)と親和性のある Annexin V の FACS 測定により行った。その結果、Annexin V 陽性赤血球は対白血球比として数値化でき、凝集塊は Annexin V 陽性赤血球を多く含むこと、移植細胞に Annexin V 陽性赤血球を混入すると脳梗塞マウスへの治療効果が阻害されることが明らかになった。

現在、造血幹細胞治療における細胞評価には、移植細胞中の CD34 陽性細胞数計測、コロニー形成細胞測定が用いられるが、効果阻害因子の定量を行うことで、より詳細な細胞評価が可能となった。ただし治療効果を得るためには、まずは採取時に凝集塊が混入しないことが重要となる。また一方で、抗凝固剤の使用が過剰となると接着因子の働きを抑制し効果減弱につながるため注意が必要である。本研究に関連し我々は、令和 3~5 年度 AMED 橋渡し研究プログラムにより、効果阻害因子の混入を抑えた自動細胞分離装置の開発を行なった。今後この装置を用い、再生医療等安全性確保法に基づく臨床研究を行う予定である。