

臍帯血による再生医療研究会
第9回 学術集会

会期：2024年10月19日（土）13：00～17：50

会長：田口明彦（神戸医療産業都市推進機構 脳循環代謝研究部 部長）

会場：神戸臨床研究情報センター（TRI）第1研修室

第9回「臍帯血による再生医療研究会」学術集会

会長挨拶

第9回「臍帯血による再生医療研究会」学術集会の大会長を拝命致しました、神戸医療産業都市推進機構、脳循環代謝研究部・部長の田口明彦でございます。本研究会を2024年10月に神戸で開催させていただけることを大変光栄に存じます。

今回の研究会では、『臍帯血を用いた再生医療の産業化』をテーマにしております。再生医療研究の進歩に伴い、造血幹細胞の組織修復や老化における新たな生理的役割が次々と判明しており、その作用メカニズムを使った産業化の取り組みも急速に進んでいます。

今回の研究会では、造血幹細胞に関する全く新しい知見と、それを使った産業化の取り組みを中心にプログラムを構成しました。

まず、特別講演としまして、日本赤十字社の木村貴文先生に臍帯血を用いた細胞治療への期待と課題についてご講演をいただき、次にセライドセラピューティクス株式会社の荒川信行様から造血幹細胞の体外増幅技術についてご講演をいただきます。また、依頼講演としまして、研究機関・大学、医療機関、企業等の融合・連携を促進、研究支援体制の構築に取り組んでいる神戸医療産業都市推進機構クラスター推進センターの小池晴彦先生よりイノベーション創出に向けた取り組みについてご講演をいただきます。もし開発シーズの事業化支援に関してお困りの先生方がいらっしゃいましたら、この機会に是非、名刺交換、連絡先交換等をしていただき、ご相談をいただけたらと思います。

更に、一般演題につきましては5名の先生方から、基礎研究から得られた最新の知見についてご発表をいただきます。

多くの皆様に神戸の地にお集まりいただき、全く新しいサイエンス！や、産業化！！に関して、皆様と熱いDiscussionができればと考えておりますので、是非ご参加のほどよろしくお願い致します。

2024年9月

神戸医療産業都市推進機構
脳循環代謝研究部 部長

田口 明彦

会場案内図

■ 神戸臨床研究情報センター (TRI) 2F 第1研修室

神戸市中央区港島南町1丁目5番4号



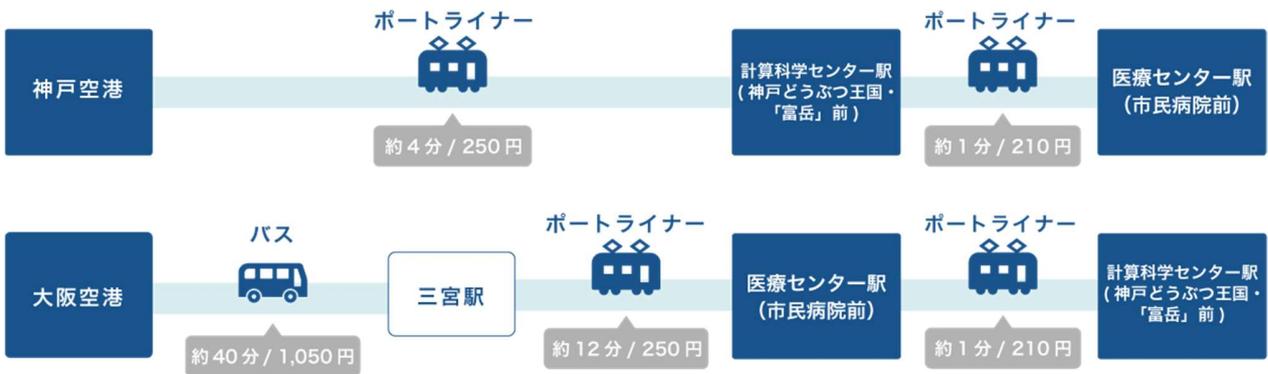
■ 交通アクセス

神戸新交通 ポートライナー 医療センター駅下車 徒歩1分

電車でお越しの方へ



飛行機でお越しの方へ



駅から建物までのご案内



第9回学術集会 日程表

評議員会（第3研修室）	
10:00～11:00	受付開始
11:00～12:00	評議員会
第9回学術集会（第1研修室）	
12:00～13:00	受付開始
13:00～13:05	開会あいさつ 田口 明彦（第9回学術集会会長）
13:05～13:10	座長紹介 座長：田口 明彦（神戸医療産業都市推進機構 先端医療センター） 木村 貴文（日本赤十字社 近畿ブロック血液センター）
13:10～13:50	特別講演 I 「臍帯血を用いる細胞治療への期待と課題」 演者：木村 貴文（日本赤十字社 近畿ブロック血液センター）
13:50～14:30	特別講演 II 「造血幹細胞の体外増幅技術の確立と臨床応用へ向けた取り組み」 演者：荒川 信行（セレイドセラピューティクス株式会社）
14:30～14:45	休憩（15分）
14:45～15:35	会長講演 「造血幹細胞を使ったアンチエイジング・認知症治療の可能性」 演者：田口 明彦（神戸医療産業都市推進機構 脳循環代謝研究部）
15:35～15:50	依頼講演 「イノベーション創出へ向けた神戸医療産業都市の取り組み」 演者：小池 晴彦（神戸医療産業都市推進機構 クラスタ推進センター）
15:50～16:05	休憩（15分）
16:05～16:25	一般講演-I 「造血幹細胞治療の効果阻害因子」 演者：斉野 織恵（神戸医療産業都市推進機構 脳循環代謝研究部）
16:25～16:45	一般講演-II 「造血幹細胞の治療効果における接着因子の重要性」 演者：小川 優子（神戸医療産業都市推進機構 脳循環代謝研究部）
16:45～17:05	一般講演-III 「早期産児脳性麻痺モデルへの Ex Vivo 細胞増幅技術を用いた臍帯血幹細胞治療」 演者：新井 那摘（大阪公立大学大学院医学研究科 発達小児医学）
17:05～17:25	一般講演-IV 「マウス新生仔脳虚血再灌流障害モデルに対する臍帯血による再生治療メカニズムの解明 ー神経系再構築とミクログリアに対する影響の評価ー」 演者：王 飛霏（高知大学医学部先端医療学推進センター）
17:25～17:45	一般講演-V 「マウス新生仔脳虚血再灌流障害モデルに対する臍帯血による再生治療メカニズムの解明 ー傷害組織と臍帯血細胞のサイトカイン産生プロファイルの評価ー」 演者：馬場 伸育（高知大学医学部先端医療学推進センター）
17:45～17:50	閉会あいさつ 相良 祐輔（研究会代表世話人）
18:00～20:00	情報交換会 （第3研修室）

講演要旨

特別講演

特別講演 I

「臍帯血を用いる細胞治療への期待と課題」

演者：木村 貴文（日本赤十字社 近畿ブロック血液センター）

特別講演 II

「造血幹細胞の体外増幅技術の確立と臨床応用へ向けた取り組み」

演者：荒川 信行（セレイドセラピューティクス株式会社）

特別講演 I

『臍帯血を用いる細胞治療への期待と課題』

日本赤十字社

近畿ブロック血液センター

木村 貴文

年間 1,400 本ほどの臍帯血有核細胞が公的臍帯血バンクを介した同種造血幹細胞移植に用いられるわが国は、世界で有数の臍帯血移植国です。いっぽう、邦人に比べて体躯が大きい欧米の患者には、体重あたりの造血幹細胞数を十分に確保できる骨髓や末梢血が移植用造血幹細胞ソースとして用いられてきました。欧米での同種臍帯血の利用価値は、主に小児造血器疾患領域と成人含む再生・細胞治療領域に見出されます。

この臍帯血造血幹細胞の組織再生・修復能は、田口ら炯眼が 2004 年に世界に先駆けて明示しました。その再生・修復メカニズムの解明に着手した彼らは、幹細胞から血管内皮細胞や神経細胞へのギャップ結合を介する極短時間での小分子の供給が脳梗塞モデル動物での血管再生と神経組織修復のトリガーの本体であることも明らかにしました。

とはいえ、臍帯血を用いた再生・細胞治療を医療として展開するには、投与後の同種免疫反応や造腫瘍性が留意すべき懸念事項として指摘されてきました。そこで輸血用血液製剤の重篤な副反応である移植片対宿主病 (GVHD) を回避するための X 線照射 (15 Gy) を臍帯血に施したところ、リンパ球および造血幹細胞の増殖・分化能は完全に抑制され、GVHD や造腫瘍性のリスクをほぼゼロにできることが確認できました。さらに、驚いたことに X 線照射臍帯血単核球 (XR 細胞) は、それを投与した脳梗塞モデル動物において、未照射臍帯血細胞を投与した場合と同等の有意な神経学的機能回復をもたらしたのです。

本概念実証 (POC) の結果を受けて、XR 細胞を用いた虚血性脳疾患に対する再生・細胞治療の社会実装を目指したいところですが、克服すべき技術的、社会的課題が残存します。本講でその解決方法について皆さんと一緒に考えてみたいと思います。

特別講演 II

『造血幹細胞の体外増幅技術の確立と臨床応用へ向けた取り組み』

セレイドセラピューティクス株式会社
代表取締役社長 CEO

荒川 信行

当社は、2020年に創業した東京大学発・筑波大学発ベンチャーで、創業の基盤技術である造血幹細胞（HSC: Hematopoietic Stem Cell）の体外増幅技術を用いて、血液・免疫疾患等への新しい治療法に繋がる製品・技術を開発・提供を目指している。難病に苦しむ人々のQOLを向上し、豊かに生きられる社会作りに貢献することをVisionとし、「パイプライン開発」と「プラットフォーム技術」の2事業を進めている。パイプライン開発としては、アンメットニーズの高い小児・難治性血液疾患や市場性の高い白血病の細胞治療製品の開発を中心に、多発性骨髄腫や血管新生向け製品（off-the-shelf）等の複数パイプラインを開発中である。

これまでヒト造血幹細胞の体外増幅は難しいとされていた。2019年にアルブミンをのりの成分であるPVAで代替し、骨髄生着能を持つ機能的なマウス造血幹細胞を1か月で約900倍増幅可能であることを東大医科研の山崎教授・中内教授のチームが発見した。更に、2020年にヒト造血幹細胞において、アルブミンをPVA誘導体で代替できることを発見し、さらにサイトカイン（SCFやTPO）も化合物で代替できることを見出し、ケミカルベースの増幅培地で未分化性を維持しHSCを増幅すること技術の開発に成功し、臨床応用への道が開けた。競合技術と比較しても、In vitroのFACS解析でヒトHSCを高純度で増幅できることを確認しており、免疫不全マウス（NOGマウス）によるIn vivo移植試験において、増幅HSCは骨髄に生着し、骨髄系・リンパ系への分化能を有することを確認した。

現在当社ではリードパイプラインとして小児希少血液疾患（再生不良性貧血、重症複合免疫不全、鎌状赤血球症等）を対象とした同種さい帯血由来の次世代移植製品の開発を米国で進めている。細胞培養に用いるISOグレードの培地は24年中の開発を予定しており、また原材料であるさい帯血（研究用および臨床グレード）は、米国さい帯血バンクからの入手経路を確立済である。現在は、さい帯血由来細胞製品の製造プロセス開発（さい帯血からのCD34+細胞の分取、増幅、凍結プロセス等）を米国CDMOと進めており、2026年にGLP安全性試験・IND申請を米国で実施し、2027年にPhase1/2試験を行う予定である。

生着を目的としたHSCの移植製品の開発と平行して、当社では増幅HSCを用いた再生医療（血管新生）への応用を目指したいくつかの共同研究を始めている。2022年は濱崎孝史教授（大阪公立大学大学院医学研究科 発達小児医学）のチームとの共同研究、2024年には田口明彦部長（神戸医療産業都市推進機構 脳循環代謝研究部）のチームとの共同研究を開始し、増幅HSCの血管新生に対する基礎的データを得つつある。今後は増幅HSCによる虚血性脳疾患等に対する血管新生の有効性の検証・非臨床データ取得を進め、同種さい帯血由来の再生医療等製品の国内及びグローバルでの開発を目指す。

会長講演

「造血幹細胞を使ったアンチエイジング・認知症治療の可能性」

演者：田口 明彦

神戸医療産業都市推進機構 脳循環代謝研究部

会長講演

『造血幹細胞を使ったアンチエイジング・認知症治療の可能性』

神戸医療産業都市推進機構
脳循環代謝研究部

田口 明彦

臍帯血だけでなく、成人の末梢血中にも少なくない数の造血幹細胞が循環していますが、その生理的役割は不明でした。ただ、患者末梢血中の造血幹細胞数の減少が脳循環代謝の悪化、心不全の悪化、腎機能の悪化と関連していること。造血幹細胞の投与が、脳梗塞患者、脳性麻痺患児、四肢虚血患者、難治性骨折患者、の再生を促進すること、等も、続々と報告されてきました。さらに、モデルマウスにおいて、投与した造血幹細胞からギャップ結合を介して、血管内皮細胞だけではなく、神経幹細胞、GFAP 陽性アストロサイト、骨芽細胞、筋芽細胞などの組織幹細胞・活性化細胞に、水溶性低分子が供与されることも判明しています。これらの基礎・臨床研究の結果より、造血幹細胞の生理的な役割が、実は二つあると、私達は考え始めています。一つ目の役割は、古くから知られている骨髄における造血です。そしてもう一つの役割は、末梢血中を循環することにより、血管内皮細胞・組織幹細胞の活性化を、常に行うことである、と考えています。造血幹細胞を使った再生医療は、多くの疾患で治療効果を示すことが報告されていますが、「骨髄で造血を担当している細胞がなぜ再生を促進するのか？」ということが、今までは大きな謎であったのですが、「元々、血管内皮細胞・組織幹細胞の活性化を担当している細胞を投与すれば再生を促進するのは当然！」ということが、判ってきています。

造血幹細胞は元々再生を促進する細胞であるため十分な治療効果が期待できること、その作用メカニズムがギャップ結合を介した作用であるためその部分に注目すれば細胞の規格化が可能であること、その機能・作用メカニズムよりアンチエイジングや認知症にも効果が期待できること、等より、幹細胞製剤としての可能性も非常に高いことが判ってきており、神戸医療産業都市推進機構でもその研究開発が急速に進んでいます。今回の研究会では、参加者の先生方と、様々な視点からの議論ができればと思っておりますので、どうぞよろしくお願いいたします。

依頼講演

「イノベーション創出へ向けた神戸医療産業都市の取り組み」

演者：小池 晴彦

神戸医療産業都市推進機構 クラスター推進センター
創薬バイオグループ・スタートアップグループ
グループリーダー

依頼講演

『イノベーション創出へ向けた神戸医療産業都市の取り組み』

神戸医療産業都市推進機構 クラスター推進センター
創薬バイオグループ・スタートアップグループ
グループリーダー

小池 晴彦

1. 神戸医療産業都市の概要

神戸医療産業都市は1995年1月に発生した阪神・淡路大震災からの復興プロジェクトとして、ポートアイランドを中心に企業や研究機関等の誘致・集積を促進し、産学官医の連携による医療関連クラスターの形成と次世代の成長産業である健康・医療関連産業の発展を通じて、「雇用の確保と神戸経済の活性化」や「先端医療技術の提供による市民福祉の向上」、「アジア諸国の医療水準の向上による国際貢献」が図られるよう取り組みを進めてきた。

昨年2023年には1998年の神戸医療産業都市の構想開始から25年が経過するとともに、来年2025年には阪神・淡路大震災から30年という大きな節目を迎える。この間、世界初のiPS細胞移植手術の実施や地元企業による手術支援ロボットの開発をはじめとした革新的成果が数多く生み出されるとともに、進出企業・団体数は360を超え、12,700人の雇用者数を擁する国内最大級のバイオメディカルクラスターへと大きな成長を遂げ、着実にその地歩を築いてきた。

2. 神戸医療産業都市における革新的な成果

神戸医療産業都市においては、産学官医の連携のもと研究・開発が積極的に推進され、数々の革新的成果が得られている。具体的には、2014年9月に高橋 政代氏を中心として進められてきた眼科領域の研究において、世界初のiPS細胞を用いた網膜色素上皮の移植手術をはじめ、数々の世界初となる網膜再生の臨床研究が進められている。また、地元企業の川崎重工業（株）とシスメックス（株）の合弁会社である（株）メディカロイドによって、2020年に手術支援ロボット「hinotori™サージカルロボットシステム」が開発され、現在、手術における利用症例数を着実に伸ばしているところである。さらに、アエラスバイオ（株）によって、不用歯の歯髄に含まれる歯髄幹細胞を培養し、神経が傷んだ歯に移植する再生医療が世界で初めて実用化している。このほか、神戸市立医療センター中央市民病院や神戸大学医学部附属病院をはじめ、神戸医療産業都市の関係機関等の連携・協働により、数々の医療技術やサービスが生み出されている。

3. イノベーション創出へ向けた取り組み

神戸医療産業都市の中核的支援機関として位置づけられ、神戸から世界へを合言葉にイノベーション創出へ向けて日々活動しているのが「(公財)神戸医療産業都市推進機構」である。当機構

は、産官学医の連携・融合を促進する総合調整機能を担うとともに、先端医療の実現に資する研究開発及び臨床応用の支援、次世代の医療システムの構築を通じて、革新的医療技術の創出と医療関連産業の集積形成に寄与することを目的としている。

本日の講演では、ネットワーク形成などを活かしたイノベーション創出のための仕組みづくり、革新的な技術が次々に生まれるエコシステムの形成、一貫した事業化支援や地元企業等のグローバル展開支援、革新的製品の創出や国内外で活躍するスタートアップの育成など、神戸医療産業都市でのイノベーション創出へ向けた取り組みについて紹介する。

一般講演

一般講演 I

『造血幹細胞治療の効果阻害因子』

演者 齊野 織恵（神戸医療産業都市推進機構 脳循環代謝研究部）

一般講演 II

『造血幹細胞の治療効果における接着因子の重要性』

演者 小川 優子（神戸医療産業都市推進機構 脳循環代謝研究部）

一般講演 III

『早期産児脳性麻痺モデルへの Ex Vivo 細胞増幅技術を用いた臍帯血幹細胞治療』

演者 新井 那摘（大阪公立大学医学研究科発達小児医学）

一般講演 IV

『マウス新生仔脳虚血再灌流障害モデルに対する臍帯血による再生治療メカニズムの解明』

— 神経系再構築とミクログリアに対する影響の評価 —

演者 王 飛霏（高知大学医学部先端医療学推進センター）

一般講演 V

『マウス新生仔脳虚血再灌流障害モデルに対する臍帯血による再生治療メカニズムの解明』

— 傷害組織と臍帯血細胞のサイトカイン産生プロファイルの評価 —

演者 馬場 伸育（高知大学医学部先端医療学推進センター）

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。(Okinaka 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 (JP23ym0126038)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。

一般講演 II

『造血幹細胞の治療効果における接着因子の重要性』

小川 優子¹⁾、保井 一太²⁾、斉野 織恵¹⁾、赤松 理恵¹⁾、淵崎 晶弘²⁾、入江 與利子²⁾、
田中 光信²⁾、木村 貴文²⁾、田口 明彦¹⁾

- 1) 神戸医療産業都市推進機構 脳循環代謝研究部
- 2) 日本赤十字社 近畿ブロック血液センター

我々は臍帯血由来の造血幹細胞が、脳梗塞モデルマウスに対して顕著な血管再生能を示すことを明らかにして来た。また、その治療メカニズムについても検証し、造血幹細胞はギャップ結合を介した直接的な細胞間相互作用により、障害された血管内皮細胞に対して低分子メタボライトを供与することに伴い、エネルギー源が枯渇した血管内皮細胞をレスキューするものであることを明らかにした。また、この反応は投与直後に生じる反応で、投与した細胞は血流に乗って移動し、病巣部位に生着、分化、増殖はしないことを明らかにしている。

造血幹細胞は成人の循環末梢血中にもごく微量ながら存在しており、末梢血中を循環しながら日々体内で生じる軽微な障害に対して修復・再生能を示すと考えられている。幹細胞が持つ本来の機能として組織修復・再生能を有する造血幹細胞は、幹細胞治療を行うにあたり最適な細胞であるといえる。しかし、造血幹細胞治療には問題点も存在しており、その1つに「個体差」が挙げられる。造血幹細胞は個体毎に状態が異なることから、治療効果には差が予測される。実際、造血幹細胞を用いた臨床試験の結果においては、著効例がある一方で一定数の無効例も存在している。造血幹細胞を用いた再生医療を普及させるためには、常に一定の治療効果を示すための細胞の規格化が重要となる。そこで我々は脳梗塞治療用の造血幹細胞に関して、治療メカニズムに基づく規格化に着手した。

現状、造血幹細胞を用いた治療を行うにあたり重要視されているのは、凝集塊混入の有無と、投与する CD34 陽性細胞の数のみである。しかし、造血幹細胞の治療メカニズムを考えると、投与後に働く細胞の数だけでなく、①障害領域に到達するための能力や、②障害部位に接着する能力、③ギャップ結合の発現量、④供与する低分子メタボライトの濃度等、様々な因子を規格値として設定する必要がある。そこで本研究では、造血幹細胞の規格化のマーカーとして、造血幹細胞上の接着因子であるインテグリン $\beta 2$ (CD18) の重要性について報告する。

一般講演 III

『早期産児脳性麻痺モデルへの Ex Vivo 細胞増幅技術を用いた臍帯血幹細胞治療』

新井 那摘¹⁾、田中 えみ¹⁾、大西 聡¹⁾、橋 大介²⁾、新宅 治夫³⁾、濱崎 考史¹⁾

- 1) 大阪公立大学医学研究科発達小児医学
- 2) 大阪公立大学医学研究科女性生涯医学
- 3) 大阪公立大学医学研究科地域周産期新生児医療人材育成寄附講座
- 4) 共同 セレイドセラピューティクス株式会社

【目的】低酸素性虚血性脳症(HIE)は正期産児・早期産児ともに起こり得るが、早期産児への低体温療法は高い死亡率と合併症リスクのため推奨されていない。また自己臍帯血幹細胞治療には十分な臍帯血量が必要であり、早期産児へ適応するには問題となる。当院での臍帯血採取の試みについて再度報告するとともに、Ex Vivo 細胞増幅技術に着目し、ヒト臍帯血増幅 CD34 陽性細胞と未増幅 CD34 陽性細胞の治療効果について早期産児脳性麻痺マウスモデルで比較・検討した。

【方法】日齢5(早期産児相当)の新生仔マウスの左総頸動脈を結紮・切断後、低酸素負荷を行い、早期産児 HIE モデルマウスを作製した。受傷48時間後に、セレイドセラピューティクス社から提供を受けた未増幅または増幅 CD34 細胞を各々 1×10^5 個静脈内投与を行った

【結果】早期産児 HIE モデルマウスへの増幅細胞投与では死亡数の増加を認めなかった。傷害作製により、無治療では有意に体重増加率や脳重量が低下したが、いずれの細胞投与でも改善に至らなかった。神経行動学的評価では、Cylinder test で増幅・未増幅細胞いずれも有意な改善を示した。免疫組織学的評価では、増幅前後の細胞治療群いずれも GFAP 陽性細胞数が有意に減少した。

【結論】Ex Vivo 増幅技術を用いた細胞は早期産児 HIE モデルマウスへ安全に投与可能であり、その有効性は増幅前後で同等であった。これまで有効な治療法がなかった早期産児脳障害や自己細胞が少量しか得られない症例へ治療の進展が期待される。

一般講演 IV

『マウス新生仔脳虚血再灌流障害モデルに対する臍帯血による再生治療メカニズムの解明』

—神経系再構築とミクログリアに対する影響の評価—

王 飛霏¹⁾、馬場 伸育¹⁾、山根 綾友¹⁾、山下 竜幸¹⁾、松村 寛子²⁾、
津田 雅之¹⁾、藤枝 幹也^{3,4)}、相良 祐輔¹⁾、前田 長正^{1,2,4)}

¹⁾ 高知大学医学部先端医療学推進センター、²⁾ 高知大学医学部産科婦人科学講座、
³⁾ 高知大学医学部小児思春期医学講座、⁴⁾ 高知大学医学部脳性麻痺再生医療研究センター

脳性麻痺に対する有望な治療法として、自己臍帯血細胞移植を用いた再生医療が期待されている。本研究では脳性麻痺モデルマウスとして新生仔脳虚血再灌流障害モデルマウスを作製し、脳スライス培養法を用いてヒト臍帯血による神経系再構築とミクログリアに対する影響を評価した。生後9日齢NOD/SCIDマウスの右総頸動脈の血流を一時遮断し、8% O₂による低酸素負荷後に再灌流させ、新生仔脳虚血再灌流障害モデルマウスを作製した。モデル作製より3週間後、脳障害を認めたマウスの脳スライスを作製し、ヒト臍帯血細胞と共培養した。共培養から3日後にスライスを固定し、シナプス小胞タンパク質であるシナプトフィジン及びミクログリアマーカーであるIba1にて免疫染色を行い、神経系再構築とミクログリアの形態学的変化を評価した。また同時に培養上清を採取し、ビーズアレイ法による上清成分の解析を行った。

マウス脳スライスと臍帯血細胞を共培養したところ、doublecortin陽性神経前駆細胞の神経突起伸長及びミクログリアの形態学的変化が認められた。さらに、共培養を行った脳スライスでは、シナプトフィジンが強発現していることが明らかとなった。培養上清成分の発現解析では、臍帯血細胞と共培養した上清において特定のサイトカインやケモカインの発現が上昇していた。本研究では、モデルマウスの脳スライスと臍帯血細胞を共培養することにより、神経系再構築とミクログリアの形態学的変化が認められ、特定のサイトカイン、ケモカインの産生により脳の微小環境を変化させていることが明らかとなった。今後は、脳スライスのゴルジ染色により神経細胞軸索とシナプス形成するスパインを評価し、神経系再構築に有効な因子の同定を行う予定である。

一般講演 V

『マウス新生仔脳虚血再灌流障害モデルに対する臍帯血による再生治療メカニズムの解明』

—傷害組織と臍帯血細胞のサイトカイン産生プロファイルの評価—

馬場 伸育¹⁾、王 飛霏¹⁾、山田 雪月葵¹⁾、山下 竜幸¹⁾、吉井 智加²⁾、
津田 雅之¹⁾、藤枝 幹也^{3,4)}、相良 祐輔¹⁾、前田 長正^{1,2,4)}

¹⁾高知大学医学部先端医療学推進センター、²⁾高知大学医学部産科婦人科学講座、
³⁾高知大学医学部小児思春期医学講座、⁴⁾高知大学医学部脳性麻痺再生医療研究センター

脳性麻痺に対する有望な治療法として臍帯血移植による再生医療が開発され、当大学において基礎および臨床研究が行われている。この治療メカニズムを解明することにより、脳性麻痺に対する新規治療としてさらに発展・確立することが期待されている。我々は新生仔脳虚血再灌流障害モデルマウスを用いた基礎的研究において、ヒト臍帯血細胞の投与により傷害脳組織から種々のケモカイン分子の産生が誘導され、組織修復や機能回復を促進する新しい脳組織環境が形成されることを報告した。本研究では、傷害組織環境における臍帯血各種細胞分画の機能をサイトカインなど液性因子の産生能から評価し、変動が認められた液性因子の脳細胞に対する作用を検討した。

生後9日齢 NOD/SCID マウスに対して、低酸素負荷と脳虚血再灌流処置により脳障害を誘導した。障害処置後3週目に脳組織を採取して組織抽出液を調製した。ヒト臍帯血単核細胞から磁気細胞分離法により CD34 陽性細胞、CD14 陽性細胞、CD45 陰性細胞を分離濃縮した。各臍帯血細胞分画の培養にマウス傷害脳組織抽出液を添加し培養上清中に分泌されたサイトカインなどヒト分泌因子の産生を Beads Array 法により定量した。

その結果、傷害脳組織環境に反応して臍帯血単核細胞は分泌因子の産生を増強させた。検討した各臍帯血細胞種において共通して発現が増強した分子として、CXCL8、IL-18、FGFb などが認められ、これら分子が臍帯血による再生医療の治療メカニズムに關与する治療効果候補因子であると考へた。

次に健常マウス脳組織から単離した脳細胞を炎症性サイトカインの存在下で培養し、ここに治療効果候補因子を添加して脳細胞の表現型変化とサイトカイン産生プロファイルを精査した。その結果、治療効果候補因子はマウスミクログリアの存在比や分化活性度を低下させる一方、ニューロン、アストロサイト、ミクログリア、オリゴデンドロサイトなど脳細胞を産生源とする特定のサイトカインの産生増強効果が認められた。

脳障害に対する臍帯血細胞移植による治療メカニズムには、臍帯血に含まれる各種細胞分画が組織傷害環境に応じて分泌する液性因子が關与すると考へられる。本研究から同定した治療効果候補因子は炎症環境にある脳細胞に直接作用したことから、組織傷害環境の調節や神経ネットワークの再構築に關与して機能回復が促進される可能性が示唆された。