

審査の結果の要旨

氏名 大内 邦枝

本研究は正常ヒト胎盤由来間葉系細胞（以下胎盤細胞）が血管新生を目的とした再生医療分野における可能性を明らかにするために、*in vitro* 実験として胎盤細胞の産生する血管内皮新生因子（VEGF）の測定、無血清培養下での細胞増殖能の測定、*in vivo* 実験として胎盤細胞を免疫不全マウスへの移植を行い、下記の結果を得ている。

1. ヒト胎盤細胞が培養上清中に単位細胞あたり 16.27-93.47pg と非常に高濃度の VEGF を産生していることが示された。測定した限りにおいてはヒト由来正常細胞では有意に胎盤細胞に比べ VEGF 産生量は低値であり、胎盤細胞と同等と考えられるのは悪性腫瘍由来細胞である HeLa 細胞のみであり、これは ELISA 法による測定と共に免疫染色によっても示された。
2. ヒト胎盤細胞から得られる VEGF は HUVEC の ³H-サイミジン取り込みではヒトリコンビナント VEGF タンパクと同等の HUVEC 増殖刺激活性を有しており、生理活性を有した VEGF であることが示された。
3. ヒト胎盤細胞は無血清条件下でも培養可能であることが示された。ELISA 法による培養上清中 VEGF 濃度は 10%仔ウシ血清添加培地での培養と有意

差が認められないことが示された。

4. ヒト胎盤細胞は無血清培養を行った後も CD73, CD105 陽性であり、分化誘導可能な間葉系細胞である可能性がフローサイトメトリーによって示された。また胎盤細胞は class I 抗原を発現し、class II 抗原を発現していないこともフローサイトメトリーにより示された。
5. マウス後肢虚血モデルへのヒト胎盤細胞移植により血流の改善がレーザードップラー血流計による観察で示された。
6. 移植組織から抽出された RNA 中のヒト mRNA 量を real-time RT-PCR 法で定量を行い、移植後 5 日の時点で移植ヒト胎盤細胞がヒト VEGF を産生している可能性が示された。

以上本論文は満期産正常胎盤から得られるヒト胎盤細胞が高い VEGF 産生能を有しており、ウイルスベクター、プラスミドなどによる遺伝子導入を伴わない血管新生治療に大きな可能性を有する細胞であることを明らかにした。本研究はこれまでの細胞移植治療とは異なり、ドナーに対して移植細胞の採取を目的とした侵襲を加えることなく HLA 抗原の検索を終えた細胞が大量に得られる点、移植細胞が無血清培養によっても VEGF 産生能が低下しない点、遺伝子導入を伴わない血管新生治療の可能性がある点で、血管新生治療の臨床応用

において重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。