

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 新納美幸

本研究は、化学療法後の重症感染症に対する新たな治療法として期待されている好中球輸注の実用化を可能にするため、マウス造血幹細胞を用いた系で、体外で効率よく好中球に分化誘導させる培養法の確立を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 培養初日より、培養液に hIL-6、mSCF、hTPO、mFL を添加することで造血幹細胞および前駆細胞を増殖させ（早期相）、day 3 より mIL-3 を添加、更に day 5 より hG-CSF を添加することでそれらを好中球へ分化誘導させる培養（後期相）を行うことで、day 10 において約 1600 倍の有核細胞が得られ、約 90% の純度の成熟好中球が得られることが判明した。

2. 培養好中球の貪食能を評価するために、好中球に蛍光ラテックスビーズを貧食させ取り込んだラテックスビーズの数をフローサイトメトリーで測定したところ、ラテックスビーズを取り込んだ細胞及び 4 個以上のビーズを取り込んだ細胞共に、培養して得られた好中球の方がマウス骨髄内好中球より有意に多かった。このことから培養好中球の貪食能はコントロールに比べて有意に高いことが示された。

3. 培養好中球の殺菌能を評価するために、好中球によって作られる活性酸素が NBT を還元してホルマザンを形成する能力（NBT 還元能）を測定したと

ころ、培養好中球はコントロールとして用いたマウス骨髄内好中球およびマウス腹腔内活性化好中球と比較して同等以上のホルマジン形成陽性細胞を認めた。このことから培養好中球の殺菌能はコントロールに比べて有意に高いことが示された。

4. phorbol myristate acetate (PMA)を用いて好中球を刺激し、発生するスーパーオキシドをチトクロームC還元反応を用いた半定量法で測定することにより、殺菌能の評価を行ったところ、培養好中球のスーパーオキシド生成速度はコントロールの約70%程度であり、得られた好中球の殺菌能は正常血球と比して遜色ないことが予測された。

以上、本論文は、好中球の体外増幅に際して、造血幹細胞及び前駆細胞の増幅と好中球への分化誘導という二段階の培養系を考案し、CD34陽性造血幹細胞から、正常好中球と同等の生理活性を有する好中球を、約1600倍という高倍率で分化誘導する事を可能にした。本研究は、造血器腫瘍の治療において重要な課題である「重症感染症の新たな治療法の開発」に焦点をあて、体外増幅した好中球の輸注により重症感染症を治療する細胞療法の実用化に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。