

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 安武幹智

本研究は輸血製剤用の白血球除去フィルター技術を応用して効率的で再現性に優れる臍帯血処理デバイスを開発し、現在の標準的方法であるハイドロキシエチルスターチ (HES) 法との比較評価を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 非イオン性親水基を有する 2-ヒドロキシエチルメタクリレートと、塩基性官能基を有する N,N-ジメチルアミノエチルメタクリレートとの共重合体をコーティングした平均繊維径 1.7 μ m のポリエチレンテレフタレート不織布の積層体を、上下に血液導入部を設けたハウジングに収め細胞分離フィルターとし、臍帯血を重力落下方式で濾過するための血液回路や有核細胞成分を貯留するための血液バッグを配することにより臍帯血処理デバイスを創出した。
2. 総有核細胞、顆粒球および単核球の回収率は、HES 法に対してフィルター法は有意に低値であったが、CD34 陽性細胞およびコロニー形成細胞の回収率は両方法に有意差は認めなかった。フィルター法は、HES 法に対して赤血球および血小板除去率が有意に高く、開放系にすることなく HES 法の 5 倍の速度で処理操作が可能であることが示された。
3. フィルターあるいは HES 法により細胞分離処理したヒト臍帯血細胞を凍結解凍し、 1×10^5 個の CD34 陽性細胞を含む細胞浮遊液を用いて NOD/SCID マウスへの二次移植評価を行ったところ、生着能を評価した。一次移植においてレシピエントの骨髄におけるヒト CD45 陽性細胞率は、フィルター群で $58.2 \pm 31.6\%$ 、HES 群で $46.5 \pm 28.4\%$ であり統計学的有意差 ($p=0.016$) を認め、リンパ球系 (CD19+) および骨髄球系 (CD33+) への分化能は HES 法、フィルター法の両群ともに有していることが示された。二次移植にお

いては生着能と多分化能は両群に差はなく、二次移植後のレシピエントから採取した骨髓をヒト用培地でコロニーアッセイし、両群においてヒト造血コロニーの形成細胞が含まれていることが示された。これらのことからフィルター法で処理保存された臍帯血細胞は、HES 法にて処理保存された細胞と同等の造血能を有すると考えられた。

4. フィルター処理あるいは HES 処理され凍結解凍された臍帯血細胞から単核球を得て、K562 株細胞をターゲット細胞として、細胞傷害活性を評価したところ、フィルター処理群、HES 群とも IL-2 存在下においてのみエフェクター／ターゲット細胞比 (E:T 比) に依存的に細胞傷害活性が同等のレベルに上昇し、NK 細胞の機能は両群で差がないことが示された。
5. フィルター処理群ならびに HES 処理群の細胞において IL-4 および GM-CSF 存在下での樹状細胞への分化誘導を試み FACS 解析したところ、CD11c および CD14 は樹状細胞の成熟とともに発現量が同様に低下することが示され、成熟樹状細胞では HLA-ABC および DR、CD40、CD80、CD86 の発現は同等レベルであることが示された。また、貪食能についてもフィルター処理群と HES 処理群で同等であり単核球の機能として両群に差がないと考えられた。

以上、本論文は不織布フィルター技術を応用して開発した臍帯血処理デバイスの細胞分離性能や造血幹細胞の骨髓再構築能、そして免疫担当細胞の機能を、臨床を模擬した実用スケールにて評価し、新しい臍帯血からの有核細胞濃縮技術としての実用性を明らかにした。本研究は臍帯血バンクのみならず全ての細胞プロセッシング技術領域において利用され得る革新的な手段を提供するものであり、将来の実用化と普及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。