



Title	多孔性担体を利用した造血前駆細胞の三次元増幅システムの構築
Author(s)	佐々木, 隆英
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44248
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 佐々木 隆 英

博士の専攻分野の名称 博 士 (工 学)

学 位 記 番 号 第 17805 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 15 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

工学研究科応用生物工学専攻

学 位 論 文 名 多孔性担体を利用した造血前駆細胞の三次元増幅システムの構築

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 吉田 敏臣

(副査)

教 授 塩谷 捨明	教 授 室岡 義勝	教 授 原島 俊
教 授 金谷 茂則	教 授 二井 将光	教 授 卜部 格
教 授 福井 希一	教 授 小林 昭雄	

論 文 内 容 の 要 旨

本論文では三次元造血微小環境に適した多孔性担体の選択、三次元共培養システムと二次元共培養システムの比較、三次元造血微小環境の解析について論述した。

第一章緒論では本研究の背景及び意義について説明した。即ち、サイトカインを用いる培養法のコストは高い。そこで、新たな培養法として三次元共培養を考案した。骨髓中の造血微小環境ではストローマ細胞が立体的に配置されているのに鑑み、この造血微小環境を再現するために多孔性担体を利用することを考え、多孔性担体とストローマ細胞による三次元培養システムによる造血細胞増幅を目指して研究を行うこととした。

第二章では、三次元造血微小環境に適した多孔性担体を検討した。骨髓中に存在するストローマ細胞の立体的な配置を体外で模倣できる可能性を各多孔性担体で比較した。三種類の担体の中で不織布担体 FC 上のストローマ細胞が最も伸展して接着し、密集することが、SEM 観察により明らかになった。また、三種類の担体を用いてマウス骨髓細胞を三次元培養したところ、FC を用いたときのみ、造血前駆細胞レベルが維持された。これらの結果から、FC が三次元造血微小環境に構築に適していると考えた。

第三章では、三次元造血微小環境の構築に適していた不織布担体 FC を用いる三次元培養と従来のディッシュ底面を用いる二次元培養を造血培養成績で比較した。マウス造血細胞を二次元、三次元共培養したところ、三次元共培養では二次元共培養に比べて 1.5-2.4 倍の造血前駆細胞が増幅された。さらに、三次元培養の方が造血幹細胞の維持においても優れていた。よって、三次元共培養システムの優位性が確認できた。

第四章では、三次元共培養システムの優位性の原因について解析した。培養上清分画とストローマ細胞分画を調べたところ、培養上清に分泌された液性因子には二次元、三次元両培養システム間にほとんど差がないが、ストローマ細胞近傍のタンパク質の蓄積量には差があることが示された。また、造血微小環境に存在するラミニン $\alpha 5$ 鎖の mRNA は、三次元培養したストローマ細胞の方が多く発現されていた。よって、この蓄積量の向上が、三次元共培養システムの二次元共培養システムに対する造血細胞培養成績の優位性の原因となっている可能性が極めて高いと考えられた。

第五章総括では本論文の結果をまとめ、この三次元共培養系を用いた臍帯血造血前駆細胞の体外増幅について考察

した。

論文審査の結果の要旨

造血前駆細胞を体外増幅できれば、白血病やがん患者に対する造血細胞移植治療に大いに貢献できる。しかし、その培養には高価なサイトカインを多量に添加する必要があるなど、問題が多くわが国では未だ臨床応用されていない。これに対して本論文では、

- (1) 造血細胞と造血支持細胞（ストローマ細胞）との三次元共培養による造血前駆細胞の体外増幅を提案し、実験に基づきストローマ細胞の三次元培養に適した多孔性担体としてポリエステル不織布を選択している。
- (2) ポリエステル不織布を用いたストローマ細胞と造血細胞との三次元共培養を従来の二次元共培養と比較し、サイトカイン無添加でも三次元共培養でのみ造血前駆細胞の増幅や造血幹細胞の維持が可能であることを、実験によって実証している。
- (3) 三次元培養が優れている原因が可溶性サイトカインの分泌ではなく、ストローマ細胞近傍のタンパク質蓄積であることを示唆する結果を得ている。

本論文は上述のようにサイトカイン無添加で造血前駆細胞を体外増幅できる方法を提案、確立し、さらに従来法に対する明らかな優位性を実証するとともに、その細胞生理学的作用メカニズムについても実験に基づき論じている。本研究で提案している造血細胞培養法は、今後の造血細胞移植治療法の進歩に寄与するところが大きい。よって本論文は、培養工学の分野で高く評価される結果を得ており博士論文として価値あるものと認める。