



Migration capacity of stem cells from human exfoliated deciduous teeth towards glioma

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2023-04-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山本, 泰資 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00004343

博士 (医学) 山本 泰資

論文題目

Migration capacity of stem cells from human exfoliated deciduous teeth towards glioma
(ヒト脱落乳歯歯髄幹細胞の悪性グリオーマに対する遊走能)

論文の内容の要旨

[はじめに]

悪性グリオーマは様々な治療法が試みられているがその予後は極めて不良である。申請者らはこれまで、悪性グリオーマに対する Herpes simplex virus derived thymidine kinase /ganciclovir (HSVTK/GCV) 自殺遺伝子療法、さらに幹細胞を使用した自殺遺伝子治療の有効性について報告してきた。様々な幹細胞の中で、自殺遺伝子のベクターとして有用である生体組織由来多能性幹細胞について検討してきた。

近年、脱落乳歯の歯髄より採取されるヒト脱落乳歯歯髄幹細胞 stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) が再生医療を中心に注目されている。SHED は間葉系幹細胞であるが、他の間葉系幹細胞と比較して採取時の侵襲が少なく、自己複製能に優れる為、再生医療の分野で応用されている。

今回、申請者は SHED の悪性グリオーマに対する遊走能や、マウス脳内での腫瘍化の有無を確認し、自殺遺伝子療法の運び屋としての適性を明らかにした。

[材料ならびに方法]

In vitro において、Scratch assay を行い、ヒト線維芽細胞 (hDF)、ヒト骨髄幹細胞 (hMSC-BM)、ヒト脂肪幹細胞 (hMSC-AT) と SHED の遊走能を比較した。Matrigel chamber を用いて、SHED のグリオーマ細胞 (U87/U251) の conditioned medium (CM) への遊走能を確認した。また、悪性グリオーマが分泌する 4 つの成長因子 (stem cell factor : SCF, platelet-derived growth factor BB : PDGF-BB, C-X-C Motif Chemokine Ligand 12 : CXCL12, vascular endothelial growth factor : VEGF) に対する SHED の遊走能を検証した。さらに、成長因子に対する抗体を用いて SHED のグリオーマ細胞の CM に対する遊走が抑制されることを検証した。

In vivo において、グリオーママウスモデルを用いて、右大脳基底核に悪性グリオーマ細胞 (U87) を移植した。その後左大脳基底核に SHED を移植し、SHED 移植後 1 週間で脳を切り出し、腫瘍細胞に対する SHED の集積を評価した。また、ヌードマウスの大脳基底核に SHED を移植し、150 日間の体重変化や行動をコントロールと比較し、脳切片にて SHED の腫瘍形成の有無を評価した。本研究は、本学動物実験委員会の承認を受けた。(承認番号:2020089)

[結果]

In vitro において、Scratch assay では SHED は hMSC-AT と比較して遊走能に有意な差は見られなかったが、hDF、hMSC-BM に比べ高い遊走能を示した。Matrigel

chamber を用いた実験では、SHED はグリオーマ細胞 (U87) の CM に対して、hMSC-BM、hMSC-AT よりも有意に高い遊走能を示し、グリオーマ細胞 (U251) の CM に対して hMSC-AT よりも有意に遊走した。また、SHED は悪性グリオーマの分泌する各種成長因子に対して濃度依存性に遊走し、各種成長因子に対する抗体を用いた実験では、SHED のグリオーマ細胞の CM に対する遊走は抑制された。

In vivo では、ヌードマウスの大脳基底核に移植した SHED は、移植後 1 週間対側半球の大脳基底核に移植されたグリオーマ細胞周囲に遊走した。グリオーマの腫瘍径と集積した SHED の細胞数は有意に相関した。また、大脳基底核に SHED を移植して 150 日経過したヌードマウスは、コントロールと比較しても体重の変化に差はなく生存した。神経所見に脱落症状は無く、脳切片の病理所見で腫瘍形成を認めなかった。

[考察]

間葉系幹細胞は再生能・増殖能に優れ、近年再生医療の分野を中心に注目されている。SHED は間葉系幹細胞の一種であるが、腫瘍形成のリスクが無く、高い自己複製能を持ち、近年、脊髄損傷やパーキンソン病、潰瘍性大腸炎等の治療細胞として研究されている。また、SHED は凍結保存で管理しやすく、現在、細胞治療の為に SHED バンクが設立されている。SHED は全身に遊走して様々な細胞に分化する神経堤細胞に由来していることから、グリオーマ細胞の CM に対して中胚葉由来の hMSC-BM や hMSC-AT よりも高い遊走能を示した可能性がある。

幹細胞の悪性グリオーマへの遊走や遊走因子に関してはいくつかの報告がある。これまで神経幹細胞や間葉系幹細胞において、悪性グリオーマの分泌する成長因子 (SCF, PDGF-BB, CXCL12, VEGF) に対する遊走が報告されており、申請者らは induced pluripotent stem (iPS) 細胞についてもこれら 4 つの成長因子に対する遊走を報告した。今回、申請者は SHED が 2 つのグリオーマの CM に対して高い遊走能を示し、上記の成長因子 (SCF, PDGF-BB, CXCL12, VEGF) に対して遊走することを確認した。このことは、SHED に遺伝子を導入することで悪性グリオーマに対する遺伝子治療の運び屋として応用できる可能性が高いことを示している。

TK 遺伝子を導入した神経幹細胞や multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) 細胞は、動物実験において HSVTK/GCV 自殺遺伝子療法運び屋として治療効果が認められているが、細胞の採取に関する侵襲性や倫理面、また細胞としての安定性において問題を抱えている。SHED は脱落する乳歯から細胞を採取する為に、採取に関しての侵襲は低く、倫理面においても優れているため、運び屋として理想的な条件を持っているといえる。

[結論]

SHED の *in vitro/vivo* における悪性グリオーマへの遊走能を確認することができた。また、SHED はグリオーマ細胞の分泌する成長因子に対して遊走することが裏付けられた。さらに、本研究では、マウス脳内での腫瘍化を認めておらず、今後、遺伝子導入した SHED を作成することで、悪性グリオーマへの遺伝子治療の運び屋として応用できることが期待される。