

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	菊 池 弘 人
主 論 文 題 名				
Therapeutic potential of transgenic mesenchymal stem cells engineered to mediate anti-high mobility group box 1 activity: targeting of colon cancer (遺伝子導入ヒト間葉系幹細胞を用いた抗HMGB1作用による新規大腸癌治療法の開発)				
(内容の要旨)				
<p>間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cell; MSC) は多能性幹細胞の一つであり、脂肪細胞、軟骨細胞、骨芽細胞、筋芽細胞、線維芽細胞などに分化することが知られている。培養に複雑な操作は不要で比較的扱いやすいとされる。</p> <p>MSCには炎症組織に対する遊走能があり、研究室では大腸癌細胞株に対しても遊走能を示すことを報告した (Go Hoshino, et al. Journal of Cell Science and Therapy, 2013)。腫瘍への遊走能に加え、MSCに抗腫瘍効果を持つ因子を遺伝子導入することで、新たなデリバリーシステムを構築できる可能性がある。実際に大腸癌に対し抗腫瘍性リガンド (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand; TRAIL) を導入したMSCを投与 (Michael, et al. Cancer Research, 2009.)、あるいは悪性黒色腫に対しインターフェロンβを導入したMSCを投与した報告 (Matus S, et al. Cancer Research, 2002.) があり、それぞれ抗腫瘍効果を認めたと結論づけている。</p> <p>本研究では炎症や腫瘍増殖のkey mediatorとされるHigh-mobility group Box 1 (HMGB1) に着目した。抗HMGB1作用を有するMSCを作成するため、アンタゴニストとして作用するHMGB1内のフラグメントであるAboxをコードした遺伝子を組み込んだプラスミドを、Nucleofectorを用いたエレクトロポレーション法によってヒトMSCに導入した。そしてMSCが培養下でAboxを安定して産生することを免疫染色により確認した。この遺伝子導入したヒトMSCの上清をHMGB1高発現大腸癌細胞株に添加し、増殖抑制効果が得られるかどうかをWST (Water soluble Tetrazolium salts) 法により検討したが、直接的な腫瘍増殖抑制効果は認められなかった。次にHMGB1において既に報告のある血管新生促進効果に着目し、細胞走化性測定装置 (EZ-TAXIScan) を用いて血管内皮細胞の走化性を観察し、新生血管に与える影響につき検討した。走化性を速度および方向性から解析したところ、Aboxを導入したヒトMSCが血管内皮細胞の遊走能を減弱させることが明らかとなった。これらの結果を踏まえ、抗HMGB1作用がもつ腫瘍への影響を明らかにすべく、HMGB1を高発現するヒト大腸癌細胞株を免疫不全マウス背部に生着させた後に、Aboxを遺伝子導入したヒトMSCを細胞移植し、腫瘍増殖抑制能を評価した。その結果、有意差をもってAbox導入ヒトMSC移植群で腫瘍増殖抑制効果が示された。In vitroでは直接的な腫瘍細胞への抑制効果を認めなかったがin vivoで腫瘍増殖抑制効果を示したことから、腫瘍とその近傍においてヒトMSCの移植後の細胞局在や新生血管の評価を行った。その結果、特異的抗体を用いた病理組織学的検討では、移植したヒトMSCが腫瘍近傍に生着しており、遺伝子改変ヒトMSC移植群においては新生血管の増生が腫瘍内外で抑制されていることが示された。</p> <p>一方でMSCは線維芽細胞や脂肪細胞などの支持組織へ分化し腫瘍の構成成分となり得ることに加え、多種の因子を分泌し逆に腫瘍を増殖させる可能性が報告されている。そのため細胞移植後2週間の観察期間をおいたが、明らかな腫瘍増大傾向は示さなかった。</p> <p>MSCの臨床応用については今後更なる検討が必要であるが、本研究結果によって遺伝子導入を行ったヒトMSCの移植が、新規抗腫瘍ターゲティング治療となり得る可能性が見出された。</p>				