

## 第80回 広島大学研究科発表会（医学）

（2019年8月2日）

1. Comparison of intracellular responses between HBV genotype A and C infection in human hepatocyte chimeric mice  
（ヒト肝細胞キメラマウスにおける HBV 遺伝子型 A および C 感染間の細胞内応答の比較）

津島 健

医歯薬学専攻 消化器・代謝内科学

### 【背景】

B 型肝炎ウイルス（HBV）感染後の臨床病態や抗ウイルス薬に対する反応は、HBV 遺伝子型によって異なるが、そのメカニズムは明らかとなっていない。

### 【目的】

HBV 感染に伴いヒト肝細胞内で生じる細胞内応答の HBV 遺伝子型による相違を明らかにする。

### 【結果】

HBV 遺伝子型 A および C に持続感染したヒト肝細胞キメラマウスからヒト肝細胞を採取し、次世代シーケンズ解析にて細胞内の遺伝子発現プロファイルを取得した。なお、コントロールとしては、HBV 非感染マウスを用いた。HBV 遺伝子型 A および C 感染により、それぞれ 780, 208 遺伝子が発現制御を受け、発現制御レベルは HBV 遺伝子型により異なることが明らかとなった。遺伝子型 C 感染マウスでは、Wnt signal pathway や Oxidative stress pathway が遺伝子型 A 感染時よりも強く誘導を受けることが明らかとなった。

### 【結語】

HBV 感染後の細胞内応答は、HBV 遺伝子型により異なり、この細胞内応答の相違が臨床経過や治療反応性に関与している可能性が示された。

2. Association between resistance-associated NS5A variants of hepatitis C virus and efficacy of direct-acting antivirals in human hepatocyte transplanted mice  
（ヒト肝細胞キメラマウスを用いた NS5A 阻害薬耐性変異型 HCV と DAA 療法の関連性の研究）

寺岡 雄吏

医歯薬学専攻 消化器・代謝内科学

HCV 治療は DAA の登場により飛躍的に進歩したが、薬剤耐性変異（RAV）の出現により治療抵抗性を示す場合があり、重要な問題である。HCV 感染ヒト肝細胞キメラマウスを用いた実験において、ダイレクシークエンス法を用いた HCV 遺伝子解析により、NS5A RAV に対する daclatasvir + asunaprevir + beclabuvir (DCV / ASV / BCV) 治療は、NS5A-L31M/Y93H などの RAV を有する場合に抵抗性を示し、NS5B-P495A/L/S の新規 RAV が出現することを報告した。また、さらに高度耐性変異である NS5A-P32del には GLE/PIB にも治療抵抗性を示すとされ、その頻度が DAA 治療不成功患者の 4.3% で出現することを報告した。さらに、同マウスを用い、P32del に GLE/PIB+SOF 治療が一定の効果を示すことを報告した。

3. The features of early-stage colorectal serrated adenocarcinoma —early-stage serrated adenocarcinomas are divided into several molecularly distinct subtypes—

（早期大腸鋸歯状腺癌の特徴—分子生物学的検討を含めて—）

平野 大樹

医歯薬学専攻 消化器・代謝内科学

鋸歯状経路は大腸癌発癌の一経路であり、大腸鋸歯状腺癌（SAC）はその最終段階と考えられている。近年、大腸癌のゲノムワイドな包括的解析で、鋸歯状経路に関連する大腸癌は予後不良なことが示された。しかし、SAC の臨床病理学的特徴や分類に関して一定の見解は得られていない。そこで、早期 SAC の臨床病理学的特徴（Study 1）および分子生物学的特徴（Study 2）を明らかにすることを目的とした。

Study 1: 早期 SAC 40 例を対象とし、癌部に鋸歯状構造を伴う群（A 群 N=17）と伴わない群（B 群 N=23）に分類し、臨床病理学的特徴を比較検討した。結果は、A 群は B 群に比較し、腫瘍径が小さく（27.6 mm 対 43.1 mm）、T1 癌の割合が高かった（71% vs

13%)。さらに癌に隣接する組織型を TSA (Traditional serrated adenoma), SSA/P (Sessile serrated adenoma/polyp), 分類不能の鋸歯状病変, 非鋸歯状病変型に分類し, 臨床病理学的特徴について比較検討した。結果は, TSA 型は他の型に比較して有意に T1 癌の割合が低かった。

Study 2: 解析に十分量の DNA を抽出できた早期 SAC 24 例を対象とし, 大腸癌のゲノムワイドな包括的解析によって示された CCS 分類に従って, 免疫染色と MSI 解析で 3 群に分類を試み, 各群での臨床病理学および遺伝子学的特徴について比較検討した。結果は, 鋸歯状経路に関連するとされる CCS3 に分類された症例は 21% であった。CCS3 は CCS1 に比べて T1 癌, 癌部の鋸歯状構造の割合が有意に高かった。また, 各群で遺伝子変異数, KRAS/BRAF 変異蓄積の割合で有意差を認めた。

以上より, 癌部に鋸歯状構造を伴う SAC は悪性度が高い可能性があることが示唆された。また SAC は分子生物学的に異なる 3 群に分類され, 各群間で臨床病理学および遺伝子学的相違を認めた。

4. C-C motif chemokine ligand 15 may be a useful biomarker for predicting the prognosis of patients with chronic hypersensitivity pneumonitis (慢性過敏性肺炎の患者において, CCL15 は予後予測バイオマーカーになり得る)

渡部 雅子  
医歯薬学専攻 分子内科学

我々は, Chronic hypersensitivity pneumonitis (CHP) 患者の肺組織を用いてマイクロアレイによる網羅的遺伝子解析を行い, C-C motif chemokine ligand 15 (CCL15) の mRNA 発現が CHP 患者の肺で亢進していることを見出した。今回我々は, CHP のバイオマーカーとしての CCL15 の有用性について検討するために CHP 患者, Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) 患者, 健常者の肺組織の免疫染色による CCL15 発現の検討と, 血清及び Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) を用いた Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法による CCL15 濃度測定を行い, 背景因子との相関を検討し, 予後解析を行った。結果は, CHP 患者の肺組織では, 健常肺や IPF 肺と比べて CCL15 の発現が亢進していた。CHP 患者において, BALF CCL15 を BALF 中 Albumin (Alb) で除した値 (BALF CCL15/Alb) は努力肺活量, 肺拡散能,

BALF 中のリンパ球数と有意に相関していた。Cox 比例ハザード解析では, BALF CCL15/Alb が CHP 患者の独立した予後予測因子であることが示された。これらの結果から CHP の病態形成に CCL15 が何らかの役割を果たしている可能性が示唆され, CHP のバイオマーカーとしての CCL15 の有用性が期待された。

5. microRNA-200c regulates KLOTHO expression in human kidney cells under oxidative stress (酸化ストレス下において microRNA-200c はヒト腎細胞での KLOTHO 発現を制御する)

森井 健一  
医歯薬学専攻 腎臓内科学

【背景】KLOTHO (KL) の発現保持は, 腎保護の点から重要であることが示唆されている。KL 発現低下の過程に酸化ストレスの関与が報告されているが, その機序は不明である。本研究では, 酸化ストレスによる KL 発現低下に, microRNA が関与しているか検討した。

【方法】ヒト尿細管細胞 (HK-2 細胞) に対し, 酸化ストレスとして過酸化水素で刺激した。酸化ストレスで増加する microRNA-200c (miR-200c) に着目し, miR-200c mimic, inhibitor を HK-2 細胞に投与して, KL 発現について検討した。さらに, KL mRNA の 3' 非翻訳領域 (3'-UTR) を有する Luciferase (Luc) reporter plasmid を用いて, miR-200c の KL mRNA に対する作用を調査した。

【結果】HK-2 細胞を過酸化水素で刺激することで KL タンパクの発現は低下したが, mRNA の発現低下を認めず, miR-200c 発現は増加していた。miR-200c mimic により KL タンパク発現低下, Luc 活性低下を認めたが, mRNA 発現低下は認めなかった。miR-200c inhibitor により, KL タンパクの発現は保持された。

【考察】酸化ストレスで誘導される miR-200c が, KL mRNA 3'-UTR を介して, KL の発現を低下させる。

6. Decreased intracellular histamine concentration and basophil activation in anaphylaxis (アナフィラキシーにおける細胞内ヒスタミン濃度の減少と好塩基球活性の低下)

山賀 聡之

**Background:** Histamine is a crucial mediator in the development of anaphylaxis. Although histamine is promptly degraded because of its short half-life in plasma, basophils, which release histamine, remain in the blood for days. To explore basophils as a potential marker and their involvement in the pathogenesis of anaphylaxis, we evaluated the intracellular histamine concentration and the degree of basophil activation in anaphylaxis patients.

**Methods:** We conducted a case-control study enrolling anaphylaxis patients and healthy controls. Basophil activation was evaluated by flow cytometry using up-regulation of CD203c expression.

**Results:** We enrolled 23 patients and measured their blood histamine concentration. Basophil activation was analyzed in seven of 23 patients. The median intracellular histamine concentrations at admission were significantly lower in patients compared with controls (16.4 ng/mL vs. 62.3 ng/mL;  $p < 0.0001$ ). The median basophil number at admission was also significantly lower in patients compared with controls (2.21 cell/ $\mu$ L vs. 21.0 cell/ $\mu$ L;  $p = 0.027$ ). CD203c expression was not up-regulated in any of the seven patients, but it was up-regulated in response to anti-IgE stimulation in two patients at admission and four patients at follow-up.

**Conclusions:** Anaphylaxis is associated with a decrease in intracellular histamine, and a reduced number and reactivity of peripheral basophils.

#### 7. Investigation of the applicability of the ESR nail dosimetry for assessment of accidental exposure in medical facilities

(医療施設での予期せぬ被ばくの評価に爪のESR測定を利用する手法の有効性に関する考察)

Chryzel Angelica B. Gonzales  
医歯薬学専攻 放射線腫瘍学

The study of human fingernails as a possible dosimeter has continued to be of interest in the field of accident dosimetry because of its potential advantages. The present study aims to investigate the suitability of fingernails for the assessment of

accidental exposure in medical facilities that utilize radiation for diagnosis or radiation therapy through the electron spin resonance (ESR) dosimetry technique. Relevant drying conditions, sample characteristics, and setup modifications were tested and compared among the samples of three different individuals. Results indicated that 1 hour of sample drying inside a heat dryer sterilizer at 100°C temperature showed good thermal stability of the ESR signals up to 30 days of post measurement. Another finding of this study was the effective approach in the signal stability for samples kept under vacuum storage condition with limited exposure to ambient light. While the samples from three different individuals showed unique dose-response curves after the X-ray irradiation, those were quite linear in the therapeutic dose range (up to 70 Gy). These results indicate that fingernails could be useful for the detection of unexpected significant exposure of patients and medical staff handling radiation or radiopharmaceuticals. Further investigations are desirable for standardization of the fingernail dosimetry in medical applications.

#### 8. An in vitro study of scarring formation mediated by human Tenon fibroblasts: Effect of Y-27632, a Rho kinase inhibitor.

(Rho-Kinase 阻害剤, Y-27632 の術後癒痕形成に及ぼす作用と治療への応用)

Dia Gemala Ibrahim  
医歯薬学専攻 視覚病態学

**Purpose:** Scarring formation is the leading cause of failure after glaucoma filtration surgery. The aim of this study, to elucidate the effect of Y-27632 on scarring formation in human tenon fibroblast (HTF).

**Methods:** Collagen gel contraction assay was used to compare contractility activity of Y-27632 with anti-glaucoma drug and in combination with other anti-glaucoma drugs. To investigate the effect of Y-27632 in post-surgical scarring, we mimic the TGF- $\beta$  secretion by inducing the cell with TGF- $\beta$  prior to Y-27632. Immunofluorescence (IF) and western blot (WB) were used to study the expression of factors relating fibrosis.

**Results:** Y-27632 inhibited contraction in collagen gel assay, which was inversely promoted by latanoprost, timolol or TGF- $\beta$ . IF and WB analysis showed that latanoprost and timolol significantly enhanced the upregulation of  $\alpha$ -SMA and vimentin while Y-27632 significantly suppressed those expressions. HTF cell culture in the presence of TGF- $\beta$  significantly increased the gel contraction. In contrast, the contraction was significantly inhibited, when treated with Y-27632. MAPK activation was also considerably inhibited by Y-27632.

**Conclusions:** These results suggest that ROCK inhibitor may inhibit scar formation after glaucoma filtering surgery via inhibition the transdifferentiation of fibroblast into myofibroblast, inhibition of TGF- $\beta$  through suppression of MAPK, while latanoprost and timolol may induce fibrosis.

#### 9. Evaluation of Automatic Monitoring of Instillation Adherence Using Eye Dropper Bottle Sensor and Deep Learning in Patients with Glaucoma (点眼瓶センサーと Deep Learning による緑内障患者点眼アドヒアランス自動把握能力の評価)

西村 和晃  
医歯薬学専攻 視覚病態学

We developed and evaluated an eye dropper bottle sensor system comprising motion sensor with automatic motion waveform analysis using deep learning (DL) to accurately measure adherence of patients with antiglaucoma ophthalmic solution therapy.

We enrolled 20 patients with open-angle glaucoma who were treated with either latanoprost ophthalmic solution 0.005% or latanoprost-timolol maleate fixed combination ophthalmic solution in both eyes. An eye dropper bottle sensor was installed at patients' homes, and they were asked to instill the medication and manually record each instillation time for 3 days. Waveform data was automatically collected from the eye dropper bottle sensor and, was judged as a complete instillation by the DL instillation assessment model. We compared the instillation times captured on the waveform data with those on each patient's record form. In addition, we also

calculated instillation movement duration from Waveform data.

The developed eye bottle sensor detected all 60 instillation events. Mean difference between patient and eye bottle sensor recorded time was  $1 \pm 1.22$  min. Additionally, mean instillation movement duration was  $16.1 \pm 14.4$  s.

The eye dropper bottle sensor system developed by us can be used for automatic monitoring of instillation adherence in patients with glaucoma.

#### 10. Influence of donor liver telomere and G-tail on clinical outcome after living donor liver transplantation (ドナーテロメアやGテールの生体肝移植後の臨床所見に関する影響)

劉 畢欧  
医歯薬学専攻 消化器・移植外科学

The length of telomeres and G-tail derived from blood samples and liver tissue of living donor measured with HPA. The length of the telomeres from the blood samples was inversely correlated with age, but the G-tail length from the blood sample and the telomeres and G-tail lengths from the liver tissue did not. Age, telomere and G-tail length from the blood and operative factors did not affect PHL and early liver regeneration on the donor side. On the other hand, the liver regeneration tended to be bad as long as liver telomere was longer. We found that the survival rate of recipients with longer telomere is lower than that of recipients receiving liver transplantation with shorter telomeres. Elderly donors, longer liver telomeres, and higher end-stage liver disease scores (MELD) were identified as independent risk factors for recipient survival after transplantation. Telomere shortening in healthy liver does not correlate with age, but longer liver telomeres adversely affect donor liver regeneration and recipient survival after living donor liver transplantation. These suggested that longer liver telomere may have a negative influence on liver regeneration.

#### 11. Synbiotics suppress colitis-induced tumorigenesis

in a colon-specific cancer mouse model

(大腸特異的癌発生マウスモデルにおいてシンバイオティクスは大腸炎により促進される腫瘍形成を抑制する)

齊藤 保文

創生医学専攻 消化器・移植外科学

Although synbiotics may be effective in maintaining remission of inflammatory bowel disease, their anticarcinogenic effects are still debated. To address this issue, we evaluated the effects of synbiotics, probiotics, and prebiotics on tumorigenesis using a *CDX2P-Cre; Apc<sup>+/-lox</sup>* mouse model harboring a colon-specific *Apc* knock out, which develops adenoma and adenocarcinoma of the colon. Dextran sodium sulfate (DSS) administration promoted colonic tumor development in *CDX2P-Cre; Apc<sup>+/-lox</sup>* mice.

Synbiotics treatment suppressed dextran sodium sulfate induced colitis in *CDX2P-Cre; Apc<sup>+/-lox</sup>* mice, thereby reducing mortality, and inhibited tumorigenesis accelerated by DSS-administration. Conversely, neither probiotics nor prebiotics had any effect on inflammation and tumorigenesis. *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium breve* were detected in the fecal microbiota of probiotics treated mice. Synbiotics treatment suppressed DSS induced expression of *IL-6*, *STAT-3*, *COX-2*, and *TNF- $\alpha$*  gene transcripts in normal colonic epithelium, indicating the possibility of suppressing tumor development. The notion in the current study that synbiotics have downregulated *IL-6*, *STAT3*, *COX-2*, and *TNF- $\alpha$*  genes, which are normally associated with inflammation and tumorigenesis in colon epithelium could possibly disclose new promising therapeutic avenue for patients with colitis-associated colorectal cancer.

## 12. Clinical significance of glypican-3-positive circulating tumor cells of hepatocellular carcinoma patients: A prospective study

(肝細胞癌患者における Glypican-3 陽性循環腫瘍細胞の臨床的意義)

濱岡 道則

医歯薬学専攻 消化器・移植外科学

Glypican-3 (GPC3) を標的とした肝細胞癌 (HCC) 患者の血中循環腫瘍細胞 (CTC) を検出し、その有用性を明らかにすることを目的とした。HCC に対して肝切除を行った 85 症例を対象とし、手術直前に末梢血 8 ml を採取、密度勾配遠心沈殿法後に抗 GPC3 抗体および磁気ビーズを用いて positive selection により GPC3 陽性細胞を回収した。その後フローサイトメトリーで CTC を検出し、CTC 数と臨床病理学的因子について検討を行った。検出された CTC 数の中央値は 3 個であった。ROC 曲線を用いて CTC のカットオフ値を 5 個に設定し、対象症例を 2 群に分けた。CTC 5 個以上の群 (n=33) は腫瘍径が大きく、腫瘍数が多く、腫瘍被膜を有する症例、顕微鏡的門脈侵襲 (mPVI) を有する症例が多かった。CTC 5 個以上は mPVI の独立した予測因子であった。CTC 5 個以上の症例の無再発生存期間、全生存期間は不良であった。以上より、GPC3 陽性 CTC は mPVI の予測因子であること、また、予後不良因子であることが明らかとなり、有用なバイオマーカーであることが示唆された。

## 13. Prolyl isomerase Pin1 binds to and stabilizes acetyl CoA carboxylase 1 protein, thereby supporting cancer cell proliferation

(プロリルイソメラーゼ Pin1 はアセチル CoA カルボキシラーゼ 1 タンパク質に結合して安定化させる。結果として癌細胞増殖を支持する。)

上田 見嗣

医歯薬学専攻 医化学

プロリルイソメラーゼ Pin1 はタンパク質を異性化し、活性変化や安定化することが知られている。また多くの癌種で発現増加と予後不良因子として報告されている。一方で、癌組織では急速な細胞増殖の原料やエネルギー源として十分な脂肪酸が必要であり、脂肪酸合成も正常組織に比べて活発に行われている。このため脂肪酸合成の律速酵素であるアセチル CoA カルボキシラーゼ 1 (ACC1) も癌組織では豊富に発現されている。

今回我々は、ヒト前立腺癌において Pin1 の発現レベルが ACC1 レベルと正の相関があることを見出し、Pin1 と ACC1 の相互作用に着目して解析を行った。Lipidomics での解析から Pin1 が脂肪酸合成を正に調整していることが示唆された。また免疫沈降法により

Pin1 と ACC1 の結合を確認した。Pin1 による ACC1 の分解経路への影響を検討したところ、Pin1 はリソソーム経路を通して ACC1 の分解を抑制した。これらの結果から Pin1 は ACC1 を安定化することで脂質代謝を活性化し、Pin1 の細胞増殖への相加的な関与が示唆された。

#### 14. Clinicopathological significance of caspase overexpression and its association with spheroid formation in gastric cancer

(胃癌における caspase 過剰発現の臨床病理学的意義とスフェロイド形成への関与)

小林 剛  
医歯薬学専攻 分子病理学

癌幹細胞を効率よく同定する方法のひとつにスフェロイドコロニー形成法がある。本研究では、以前当研究室で行われたマイクロアレイ解析にて、スフェロイド形成した胃癌細胞株 MKN45 及び MKN74 の両者において高発現している caspase に着目した。定量的 RT-PCR では、正常 14 組織と比較して胃癌細胞株において caspase の高発現を認めた。免疫組織学的検討では、胃癌組織 203 例中 94 例 (47%) が caspase 陽性であり、caspase の発現は、T grade, N grade, tumor stage, lymphatic invasion と有意な相関し、caspase 陽性例は予後不良であった。Caspase と癌関連分子との関連について解析を行ったところ、caspase の発現は CD44, p53 および HER2 と有意に相関することを見出した。細胞株を用いた検討では、caspase をノックダウンした胃癌細胞は、増殖能および浸潤能が有意に抑制された。Caspase は胃癌の進行において重要な役割を担っていると考えられる。

#### 15. Magnetic Resonance Imaging Evaluation of Cartilage Repair and Iron Particle Kinetics After Magnetic Delivery of Stem Cells

(MRI を用いた間葉系幹細胞の磁気ターゲティングにおける磁性体と軟骨修復の評価の検討)

大田 悠貴  
医歯薬学専攻 整形外科学

本研究は、磁力による細胞デリバリーシステムである MSC 磁気ターゲティングを関節軟骨欠損モデルに対して行い、MRI を撮影し関節内 ferucarbotran の動

態と MRI 撮影の安全性について確認することを目的とした。

【方法】日本白色家兎に膝関節軟骨欠損を作成した。欠損部に MSC 磁気ターゲティングを行った群 (m-MSC 群)、欠損部に MSC 投与した群 (MSC 群)、欠損部に PBS 投与した群 (control 群) を作成し、処置後 1, 4, 12 週で MRI を撮影し組織学的評価も行った。

【結果】m-MSC 群において、PDW 画像では欠損部が軟部組織で覆われており、T2\* 画像で ferucarbotran による低信号領域が確認でき、経時的に縮小した。T2 mapping では処置後 12 週で T2 値の範囲が有意に広く、組織学的にも m-MSC 群は有意に良好な成績であった。MRI 撮影後も移植細胞の剥離などの悪影響は認めなかった。

#### 16. Novel Near-Infrared Fluorescence-Guided Surgery With Vesicular Stomatitis Virus for Complete Surgical Resection of Osteosarcomas in Mice

(骨肉腫マウスモデルにおける完全外科的切除のための水疱性口内炎ウイルスを用いた新しい近赤外線蛍光ガイド手術)

作田 智彦  
医歯薬学専攻 整形外科学

これまで蛍光イメージングを用いて術中悪性腫瘍細胞の可視化が試みられてきたが現在も明確な境界の同定と完全な腫瘍切除は困難な課題である。これに対処するために腫瘍特異性ウイルスである水疱性口内炎ウイルス (vesicular stomatitis virus; VSV) に近赤外線蛍光蛋白 (katashka) を組み込んで組換え VSV-Katashka (rVSV-K) を作成し、新しい蛍光バイオイメージングシステムを開発した。

マウスの背部皮下に高肺転移性マウス骨肉腫細胞 LM8 を移植して骨肉腫マウスモデルを作成し、rVSV-K による蛍光ガイド腫瘍切除を施行した。腫瘍切除標本 (H&E 染色標本)、局所再発、遠隔転移、生存率の評価を行った。

本研究から rVSV-K が骨肉腫細胞に特異的に感染し、rVSV-K を用いた近赤外線蛍光バイオイメージングは完全な悪性腫瘍切除を可能にすることが示唆された。

#### 17. Repair of an Osteochondral Defect With Mincled

### Cartilage Embedded in Atelocollagen Gel: A Rabbit Model

(ウサギモデルにおける骨軟骨欠損に対するアテロコラーゲン包埋細切軟骨片の治療効果)

松下 亮介  
医歯薬学専攻 整形外科学

本研究では、細切軟骨片をアテロコラーゲンゲル (ACG) に包埋し軟骨欠損部に移植することの効果を検討した。In vitro では ACG に兎の細切軟骨片を包埋した群 (M 群), 単離した軟骨細胞を包埋した群 (C 群) を比較し, 細胞数, Bern score は有意に M 群が良好であった。In vivo では兎の骨軟骨欠損に処置を行わない欠損群, ACG のみを充填したアテロ群, 単離した兎の軟骨細胞を ACG へ包埋後 3 週培養し欠損部へ充填した ACI 群, 細切軟骨片を ACG に包埋後一期的に欠損部に充填した minced cartilage 群の 4 群を比較し, minced cartilage 群は欠損群, アテロ群と比較し有意に良好な成績であった。また, minced cartilage 群は ACI 群と同等の成績であった。この方法では, 細切軟骨片から ACG 内への軟骨細胞の遊走・増殖が誘導され, 細胞培養を行うことなく一期的に正常の軟骨基質を利用して軟骨修復を行うことができ, 骨軟骨欠損治療の選択肢の 1 つになると考えられる。

#### 18. In Vitro Safety and Quality of Magnetically

### Labeled Human Mesenchymal Stem Cells Preparation for Cartilage Repair

(軟骨修復に対する in vitro における磁性化ヒト骨髄間葉系幹細胞の安全性と品質評価)

根木 宏  
医歯薬学専攻 整形外科学

磁気ターゲティングによる軟骨修復におけるヒト骨髄間葉系幹細胞 (MSC) の磁性化の安全性と品質安定性を検討した。

安全性評価では磁性化は MSC の染色体異常や足場非依存性のコロニーの形成を来さず, わずかに増殖能の亢進は認められたが細胞の不老化は来さないことがわかった。品質評価においても磁性化の濃度によって MSC の cell viability に影響は及ぼさなかった。一方で磁性化濃度依存性に MSC の細胞内鉄含有量は上昇する傾向を認められたが, ドナー間で鉄含有量には差を認められた。軟骨分化能は高い濃度で磁性化すると低下し, 細胞内の鉄含有量が多い MSC において軟骨分化能が低下することが分かった。磁場に対する磁性化 MSC の反応性は磁束密度の上昇とともに上昇し, 従来の濃度 (97.56 $\mu$ g Fe/mL) による磁性化においては 100mT 以上の磁束密度下で反応を認めた。

本研究の結果, MSC の磁性化の安全性が証明され, 磁気ターゲティングの臨床応用において具体的な磁場や磁性化条件を提示することが可能となった。