

K3-64 マウス下肢虚血モデルに対するヒト卵膜由来間葉系幹細胞移植による血管新生効果

国立循環器病センター研究所生化学部¹, 国立循環器病センター研究所再生医療部², 国立循環器病センター³
 原田和彦¹, 石兼 真², 中村篤宏², 吉松 淳³, 根木玲子³, 山中 薫³, 桂木真司³, 上田恵子³, 岩永直子³, 池田智明³

【目的】卵膜は分娩時に破棄されるため倫理的に認められやすい再生医療の材料として期待されている。これまでに、我々は、妊娠満期のヒト羊膜および絨毛膜から大量の間葉系幹細胞(MSC)が得られること、またこれらのMSCには、パラクライン効果による心血管細胞保護効果があることを報告した。本研究では、ヒト羊膜および絨毛膜由来MSC移植による血管新生効果について免疫抑制マウス下肢虚血モデルを用いて検討した。【方法】同意を得て提供されたヒト卵膜を用いた。卵膜を用手分離により羊膜および絨毛膜へ分離後、それぞれの膜を細切し、コラゲナーゼ処理によりMSCを分離した。6週齢のKSNヌードマウスを用いて下肢虚血モデルを作製した。下肢虚血作製24時間後、 1×10^6 個の卵膜由来MSCを虚血部位に移植した。経日の血流変化をレーザードップラー血流計により評価した。またCD31抗体を用いて免疫染色し、虚血肢の血管を定量した。また、ELISA法を用いて卵膜由来MSCから分泌される細胞増殖因子・血管新生因子を測定した。【成績】卵膜由来MSC移植により、マウス虚血肢血流の有意な改善を認め、虚血肢における微小血管数の増大を認めた。また、卵膜由来MSCからHGF, IGF-1, bFGF, VEGF等の細胞増殖因子・血管新生因子が分泌されていた。これらの増殖因子分泌量は由来組織によって異なっていた。【結論】ヒト卵膜由来MSCは血管新生効果を示し、この作用はパラクライン効果によるものに関与すると考えられた。卵膜由来MSCは今後、再生医療資源として有用であると考えられた。

K3-65 自己相補型アデノ随伴ウイルスベクターによるフェニルケトン尿症の遺伝子治療—maternal PKUの予防に向けて—

筑波大¹, 自治医大遺伝子治療研究部²
 八木洋也¹, 水上浩明², 小倉 剛¹, 濱田洋実¹, 吉川裕之¹, 小澤敬也², 久米晃啓²

【目的】コントロール不良なフェニルケトン尿症(PKU)女性が妊娠すると、母体の高フェニルアラニン(Phe)血症が胎児の心血管・中枢神経系等に異常をもたらす(maternal PKU:mPKU)。これまでのPKU遺伝子治療研究においては、雄に比して雌での治療効果が低いことが報告され、このことはmPKU予防においても問題とされている。そこで本研究は、新規の自己相補型アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターに臓器特異性の高いAAV血清型とプロモーターを併用した際の、雌PKUマウスでの治療効果を明らかにすることを目的とした。【方法】(1)肝特異的プロモーターLP1及びマウス型フェニルアラニン水酸化酵素(mPAH)遺伝子を組み込んだ、自己相補型AAV8型ベクターを新規に作製し、PKUマウスに腹腔内投与した後、血中Phe濃度測定と¹³C-Phe負荷試験を行い、mPAH遺伝子発現の評価を行った。(2)その後組織よりDNAを抽出し、Real-time PCR法を用いたベクターDNA定量を行い、AAVベクターの生体内分布を解析した。【成績】(1)従来の1,000分の1量(10^{11} ベクターゲノム:vg)で、投与後40週での雌マウスの血中Phe濃度は、従来法の 33.9 ± 7 mg/dlに比して 6.7 ± 0.7 mg/dlと改善が著明だった。¹³C-Phe負荷試験による呼気中delta¹³CO₂(野生型マウス:40%以上)も治療前 $1.6 \pm 1.0\%$ から治療後 $32.7 \pm 13\%$ と有意なPhe代謝能の改善を認めた。(2)AAVベクターは効果的に肝臓に取り込まれており、肝細胞diploid DNAあたり1vg以上のベクター量で血中Phe濃度が治療域に達した。肝臓以外への有意な取り込みは認めなかった。【結論】自己相補型AAVベクターによるPKU遺伝子治療は、雌マウスに対しても効果が高い。本法の応用によりmPKU予防にも期待がもたれる。

5
日
高
得
点
演
題

K3-66 IgG avidity と Nested PCR を用いたトキソプラズマ感染スクリーニング法の有用性：IgM 陽性 105 妊婦の前方視的検討成績

NTT 東日本札幌病院¹, 北海道大², 札幌東豊病院³, エムズレディースクリニック⁴, ジェネティックラボ病理解析センター⁵, 札幌イムノ・ダイアグノスティック・ラボラトリー企画開発部⁶, 札幌医大⁷
 西川 鑑¹, 山田秀人², 菅原正樹³, 山田 俊², 神藤巳佳⁴, 山本智宏⁵, 水江由佳⁶, 斉藤 豪⁷, 水上尚典²

【目的】トキソプラズマ(Toxo) IgM 検査では持続陽性例などの問題のため、感染時期の判定がしばしば困難であった。我々はIgG抗原結合力を表すAvidity index(AI)およびPCR検査を全例に実施する管理方針を作成し、前方視的臨床研究を行ってきた。今回はこれまでの成績をまとめIgM陽性症例の感染危険因子について検討を加えた。【方法】Toxo PHA陽性かつIgM陽性ないしグレーゾーンの105妊婦に対して、AIを調べた。AI低値で急性期感染が示唆される場合はアセチルスピライミンを投与した。同意が得られた症例では、羊水穿刺によりToxo DNAを解析した。新生児感染の有無は、児のIgMおよびPCR、頭部CT、眼底検査により診断した。Nested PCR法では、数ゲノムコピーのToxo DNA同定が可能であった。正常対照としてToxo PHA陰性の妊婦101人から感染危険因子の聞き取り調査を行い比較検討した。【成績】これまでに94妊娠が帰結した。3例で羊水PCRが陽性であったが、臍帯血PCR陽性例はいなかった。AI高値で羊水PCR陽性例はいなかった。羊水PCR陽性3例のうち、1例(AI23%)は28週と分娩時の羊水PCR陽性で頭蓋内石灰化が認められ先天性トキソプラズマ症と診断された。1例(AI4%)は分娩時羊水PCR陽性、生後4ヵ月でIgM陽性となり現在経過観察中である。他の1例(AI20%)は妊娠中絶に至った。また、分娩時羊水PCR陰性例からの胎内感染例はなかった。感染危険因子としては生肉摂取が有意にIgM陽性群で多くみられた。【結論】今回の管理方針は、先天性トキソプラズマ症の診断ならびに治療方法の選択などに有用である。IgM陽性例のリスク評価と適切な管理が可能となり、妥当性が低い人工中絶を防止できると考えられる。