

	まつもと なお や
氏 名	松 本 尚 也
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大博(医)第1669号
学位授与の日付	平成17年 2月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
博 士 論 文 名	Successful liquid storage of peripheral blood stem cells at subzero non-freezing temperature (氷温貯蔵を用いた末梢血幹細胞の非凍結保存)
論文審査委員	主査 教授 相 澤 義 房 副査 教授 下 條 文 武 副査 教授 鈴 木 榮 一

博士論文の要旨

末梢血幹細胞移植(Peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT) は骨髄移植に代わる治療法として注目されている。近年、自家末梢血幹細胞移植(auto-PBSCT)が造血器腫瘍のみならず、化学療法に高感受性の乳癌、小細胞肺癌など種々の固形腫瘍に対しても広く行われるようになり、その有効性も確認されつつある。

auto-PBSCT における末梢血幹細胞(PBSC)の保存には、 -80°C での凍結保存法が通常用いられている。しかし、凍結解凍手技が煩雑であり、治療普及の妨げとなっていた。そこで、この過程を簡便化するため氷温貯蔵を用いたPBSCの非凍結保存を試み、その至適保存条件を検討した。なお、「氷温」とは 0°C 以下の未凍結温度帯であり、この温度領域で対象物を凍結させずに長期保存する技法が氷温貯蔵である。魚介類、果実の保存など主に食品貯蔵の分野で発達してきた技術であるが、近年、医学分野への応用が検討されつつある。

auto-PBSCT 併用 cyclic ICE 療法(Ifosfamide+Carboplatin+Etoposide)で治療した小細胞肺癌患者のPBSCを検体として用いた。採取されたPBSCを、移植用臓器の冷却保存に使用されているUniversity of Wisconsin solution(UW液)を保存液として 0°C 、 -1°C 、 -2°C の氷温で保存した。UW液の組成は lactobionate, raffinose, hydroxyethyl starch, adenosine, glutathione, allopurinol, MgSO_4 である。電解質組成は $\text{Na } 30\text{mM}$, $\text{K } 120\text{mM}$ と細胞内液組成に調整されている。なお、ACD-A液を保存液とした 4°C 冷蔵保存、及び簡易凍結保存法(牧野法)による -80°C の凍結保存を対照群として設定した。72時間保存後にコロニーアッセイを行って、CFU-GM(granulocyte macrophage colony forming unit)形成数の経時的変化(コロニー回収率)を評価した。

UW液中に -2°C で氷温貯蔵を行った場合に最も良好な保存効果が得られ、保存から

72 時間後の CFU-GM 回収率は 67.3%、また、有核細胞回収率 91.6%、トリパンプルー生存率は 92%であった。本法での CFU-GM 生存率(67.3±9.2%)は、ACD-A 液での 4℃ 保存(42.9±15.3%)、また、-80℃簡易凍結保存法(52.7±10.7%)と比較して有意に高値であった($p < 0.01$)。

UW 液と氷温貯蔵を用いた PBSC の非凍結保存は有用であり、今後新たな造血幹細胞保存法としての臨床応用を検討する価値がある。

審査結果の要旨

申請者は、自己末梢血幹細胞移植(auto-PBSCT)における末梢血幹細胞(PBSC)の保存方法を簡便化するために、氷温貯蔵を用いた PBSC の非凍結保存法について検討した。

auto-PBSCT 併用 cyclic-ICE 療法 (Ifosfamide+Carboplatin+Etoposide) で治療した小細胞肺癌患者の PBSC を University of Wisconsin solution (UW 液) に浮遊させ、0℃、-1℃、-2℃の氷温で保存した。なお、ACD-A 液を保存液とした 4℃冷蔵保存、簡易凍結保存法(牧野法)による -80℃の凍結保存をそれぞれ対照群として設定した。72時間保存後にコロニーアッセイを行って、CFU-GM (granulocyte macrophage colony forming unit) 形成数の経時的変化(コロニー回収率)を評価した。UW 液中に -2℃で氷温貯蔵を行った場合に最も良好な保存効果が得られ、保存から 72 時間後の CFU-GM 回収率は 67.3±9.2%であった。これは、ACD-A 液での 4℃保存(42.9±15.3%)、また、-80℃簡易凍結保存法(52.7±10.7%)と比較して有意に高値であった($p < 0.01$)。

以上、本研究は、UW 液と氷温貯蔵を用いた PBSC の非凍結保存が新しい治療手段として臨床的に有用であることを明らかにした点に、学位論文としての価値を認める。