

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461868

研究課題名(和文) 大量放射線被ばくに対する混合臍帯血移植治療の確立と作用機序解明

研究課題名(英文) Establishment of effective mixed umbilical cord blood transplantation for lethal dose radiation exposure

研究代表者

伊藤 巧一 (Ito, Koichi)

弘前大学・保健学研究科・教授

研究者番号：90398579

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：大量放射線被ばくによって失われた造血系の回復には臍帯血移植が1つの有効な治療手段となる。本研究では、被ばく医療に適した混合臍帯血移植についてマウスモデルを用いて検証した。高い救命効果は、予想に反してレシピエントと組織適合性抗原(MHC)型が異なる臍帯血ソース同士を混合移植した際に見られた。また、その異系混合臍帯血移植は致死量放射線照射により失われたレシピエント自身の造血系を復活させる効果を有していた。放射線ばく露個体自身の造血系が回復することは正常な免疫機能を維持する上でも有益と考えられる。これらの結果は、被ばく医療に特化した混合臍帯血移植における異系臍帯血ソース使用の有効性を示唆する。

研究成果の概要(英文)：Hematopoietic stem cell transplantation is a powerful treatment that can be used to reconstitute hematopoietic systems damaged by accidental exposure to a lethal dose of radiation. Although umbilical cord blood cells (UCBCs) are an excellent transplant source, only a small number of cells can be obtained from a single umbilical cord. Mixed UCBC transplantation can overcome this limitation. In the present study using a murine model, we examined whether mixed UCBC transplantation would be suitable for radiation emergency medicine. Interestingly, a higher life-saving effect was obtained when allogeneic cord blood sources were mixed. In addition, such allogeneic mixed UCBC transplantation had the effect of restoring the recipient's own hematopoietic system after exposure to a lethal dose of radiation. These results suggest the effectiveness of allogeneic umbilical cord blood as a source for mixed UCBC transplantation at centers specializing in radiation emergency medicine.

研究分野：免疫学

キーワード：被ばく医療 臍帯血移植 免疫系再構築

1. 研究開始当初の背景

臍帯血移植は主に白血病や骨髄機能不全に対する有効な治療法として用いられている。また、1999年茨城県東海村のウラン加工施設での高線量被ばく事故の治療には、造血機能を回復する目的で骨髄移植と共に臍帯血移植が実施された。臍帯血は成熟T細胞をほとんど含まないため拒絶反応が起こり難いというメリットがある反面、一人の妊婦から得られる細胞数が少ないため患者一人の需要を満たせないというデメリットがある。したがって、臍帯血移植を実用的な治療法にするにはこの数的限界を克服する必要がある。この目的を達成する方法として複数の臍帯血を混合して用いる方法がある。混合臍帯血移植の臨床試験は国内外の一部の施設で始まっているが、この移植の有効性と特性に関する学術的検証は乏しい。詳細な学術的検証には自由度の高い動物実験系が不可欠となる。

被ばく医療として、混合臍帯血移植が放射線被ばく個体に対して、高い救命効果と被ばく個体自身の造血系回復を達成することが理想的と考えられる。本研究では、どのような臍帯血混合が最も高い救命効果と同時に完全な造血系再構築を誘導できるかをマウスモデルで検証した。

2. 研究の目的

東日本大震災に伴う東京電力・福島第一原子力発電所からの核分裂生成物の環境への漏洩は放射能汚染や放射線被ばくという深刻な問題を生み出した。また国政として原発再稼働と廃炉作業が同時進行することから、今後さらなる核施設周辺住民の健康への対策はもとより従業員への安全対策の確立は、早急に取り組むべき重要な課題の1つである。本研究では、核施設の従業員が全身大量被ばくした場合に対応できる混合臍帯血移植の最適条件の確立と回復機序の解明を目的とした。本研究は、被ばく医療の中でも最悪の事態に対応するための重要な治療法の確立と位置づけられる。

3. 研究の方法

組織適合性抗原(MHC)の異なる3系統(B6, BALB/c, C3H)のマウスを系統別に交配した。交配18日後、胎児を摘出し、胎児から採取した末梢血を移植臍帯血ソースとして用いた。これら3種類の臍帯血をすべてのコンビネーションで2種類ずつ等量混合し(群; B6(半量) 群; B6+B6、群; B6+BALB/c、群; B6+C3H、群; BALB/c+C3H) 致死量放射線照射したB6レシピエントマウスに移植した。移植後、レシピエントマウスの生存日数を観察すると共に末梢血中の免疫細胞再構築をフローサイトメトリーで解析した。さらに長期生存したレシピエントマウスで再構築された免疫細胞の機能性を皮膚移植により検証した。

4. 研究成果

移植後16週までの生存率に関しては、群の80%に対して群では100%になったことから同系臍帯血による数的補充効果は認められた。しかしながら、群および群の生存率は両群とも50%前後であったことから、異系臍帯血による数的補充は認められず、むしろ群との比較から生存率を低下させる結果となった。一方、最も生存率が低いと予想した群の生存率は90%と群よりも良好な結果を示した。すなわち、大量放射線被ばく個体に対する混合臍帯血移植では、MHCが適合しない移植ソースが使用できることがわかった。また、群のBALB/cおよびC3Hのそれぞれ単独移植では生存率が著しく低下することから、両者を混合することの重要性が示された。

次に、これらレシピエントB6マウスの末梢血を用いて再構築された免疫細胞の由来を調べたところ、同系臍帯血を用いた群と群では移植した造血幹細胞に由来する再構築が、同系ならびに異系臍帯血を用いた群と群では同系の造血幹細胞に由来する再構築が認められたが、異系臍帯血に由来する再構築は認められなかった。しかし群と群では、群と群では見られなかったレシピエント自身の造血幹細胞に由来する再構築が同時に認められた。このことから、混合した異系臍帯血は放射線照射によって損なわれたレシピエント由来の造血幹細胞の回復に寄与している可能性がある。この推測を支持する結果として、2種の異系臍帯血を移植した群ではレシピエント自身の造血幹細胞に由来する再構築のみが認められた。さらにこの自己回復した群の生存レシピエントB6マウスに皮膚移植を実施したところ、B6由来の皮膚を生着させ、一方BALB/cならびにC3H由来の皮膚を拒絶したことから、致死量放射線照射後に群の自己造血幹細胞で再構築された免疫細胞が正常な機能性を維持していることが証明された。

これらの結果から、被ばく医療で実施する混合臍帯血移植では救命効果ならびに自己造血機能回復を計る上で異系臍帯血同士の混合が適していることが示唆された。この作用機序については異系臍帯血を混合することで分泌されるサイトカイン等が重要な役割を果たしている可能性が示された。今後詳細な検討を要する。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計4件)

H. Maeda, H. Sato, M. Araya, K. Ito, K. Terui, E. Tsushima, M. Nakano, K. Ito. In Vivo Functional Adaptive Immune Responses in Mice Subjected to Allogeneic Umbilical Cord Blood Cell Transplantation.

The Hirosaki Med. J (査読有), 66(2-4):162-175. (2016).

URI: <http://hdl.handle.net/10129/5812>

T. Hirouchi, K. Ito, M. Nakano, H. Yoshino, M. Chiba, M. Hazawa, A. Nakano, J. Ishikawa, M. Yamaguchi, K. Tanaka, I. Kashiwakura Mitigative effects of a combination of multiple pharmaceutical drugs on the survival of mice exposed to lethal ionizing radiation. *Curr Pharm Biotechnol* (査読有), 17(2): 190-199. (2015).

DOI:10.2174/1389201016666150826125331

M. Yamaguchi, T. Hirouchi, M. Nakano, S. Monzen, H. Yoshino, M. Chiba, J. Ishikawa, A. Nishiyama, S. Murakami, K. Ito, I. Kashiwakura, Long-lasting radioprotective effects of a combination of pharmaceutical drugs on the survival of mice exposed to lethal ionizing radiation. *Radiation Emergency Medicine* (査読有), 3(1):50-55 (2014).URL:http://www.hs.hirosaki-u.ac.jp/~hibaku-pro/rem/archives4_rem3_1.html

I. Nanba, Y. Tamoto, K. Terashima, H. Maeda, M. Nakano, K. Ito, K. Ito, Elucidation of the mechanism of immunoregulation after double-unit umbilical cord blood transplantation. *The proceedings of the 5th international symposium on radiation emergency medicine at Hirosaki University* (査読無), 5:31-35 (2013).

[学会発表](計10件)

K. Terui, S. Yamakawa, F. Matsuura, M. Furuta, K. Ito, H. Maeda, M. Nakano, K. Ito. Effectiveness and characteristics of immune reconstruction by double-unit umbilical cord blood transplantation in mice subjected to whole-body X-ray irradiation. *The 44th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology*. 2015年11月18日~2015年11月20日,北海道札幌市(札幌コンベンションセンター)

H. Maeda, K. Terui, H. Ajima, K. Ito, M. Nakano, and K. Ito. Allogeneic umbilical cord blood cell transplantation for the treatment of acute high-dose total body X-ray irradiation in mice. *15th International Congress of Radiation Research*. 2015年05月25日~2015年05月29日, 京都府京都市(京都国際会議場)

K. Terui, H. Ajima, H. Maeda, K. Ito, M. Nakano, and K. Ito. Is double unit umbilical cord blood cell transplantation an effective

therapeutic strategy for lethal dose radiation exposure?. *15th International Congress of Radiation Research*. 2015年05月25日~2015年05月29日, 京都府京都市(京都国際会議場)

H. Maeda, K. Terui, M. Nakano, K. Ito and K. Ito. Effectiveness of hematopoietic recovery of allogeneic umbilical cord blood transplantation for acute high-dose total X-ray exposure. *2nd Educational Symposium on Radiation and Health by Young Scientists (ESRAH2015)*, 2015年05月23日~2015年05月24日,青森県弘前市(ホテルニューキャッスル)

K. Terui, H. Maeda, M. Nakano, K. Ito and K. Ito. Characteristics of the immune reconstitution by mixed umbilical cord blood cell transplantation for lethal-dose radiation exposure. *2nd Educational Symposium on Radiation and Health by Young Scientists (ESRAH2015)*, 2015年05月23日~2015年05月24日,青森県弘前市(ホテルニューキャッスル)

H. Maeda, K. Ito, H. Sato, M. Nakano, K. Ito. Analysis of immune reconstitution by murine allogeneic umbilical cord blood transplantation. *The 43th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology*, 2014年12月10日~2014年12月12日, 京都府京都市(国立京都国際会館)

H. Maeda, K. Terui, H. Ajima, M. Nakano, K. Ito, K. Ito. Allogeneic umbilical cord blood transplantation for acute high-dose total body X-ray exposure in mice. 1st Educational Symposium on Radiation and Health by Young Scientists (ESRAH2014). 2014年09月21日~2014年09月22日, 青森県弘前市(ホテルニューキャッスル)

伊藤巧一, マウス臍帯血移植モデルを用いた免疫系再構築に関する研究, 第24回東北動物実験研究会・特別招待講演 2013年12月6日, 青森県弘前市(弘前文化センター)

H. Maeda, H. Sato, K. Ito, K. Ito. Immunological dominance of umbilical cord blood cell transplantation in B-1a cell reconstitution. *The 42th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology*. 2013年11月11日~2013年11月13日, 千葉県千葉市(幕張メッセ)

I. Nanba, Y. Tamoto, K. Terashima, H. Maeda, M. Nakano, K. Ito, and K. Ito. Elucidation of the mechanism of

immunoregulation after double-unit umbilical cord blood transplantation. 第5回 緊急被ばく医療国際シンポジウム, 2013年10月19日,青森市(ホテルクラウンパレス青森)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 巧一 (ITO, Koichi)
弘前大学・保健学研究科・教授
研究者番号：90398579

(2) 研究分担者

中野 学 (NAKANO, Manabu)
弘前大学・保健学研究科・助教
研究者番号：10436016

(3) 連携研究者

()

研究者番号：