

第一段階となる。しかし、CAR・標的分子ともに Lck を引き寄せる機能はないため、CAR 分子が腫瘍細胞を認識してから CAR-T 細胞の活性化を引き起こす分子機構は解明されていない。本研究では抗原提示平面脂質膜と分子イメージングを融合して CAR-T 細胞と腫瘍細胞の接着面における分子ダイナミクスを高解像度で検出できる実験系を用いた。その結果、前回までに第二世代ヒト CD19-CAR-T 細胞が標的分子の CD19 を認識すると CAR 分子の凝集複合体の CAR マイクロクラスターを形成して CAR-T 細胞シグナルのシグナロソームとして機能していることを発表した。本発表では個々の CAR 分子のダイナミクスを追跡するために蛍光一分子イメージング法を用いて動態解析を行った。CAR マイクロクラスター以外では自由運動する一方で、クラスター内での運動は著しく制限されることが分かった。CTL の TCR も同様な挙動を示すが、運動が制限される持続時間が CAR のほうが極端に長いことを見出した。TCR も抗原との親和性が高い場合は共受容体の活性化への寄与が少ないことが分かっている。さらに Lck の挙動を解析すると CAR マイクロクラスターに停滞することを観察できており、CAR 分子の長い停滞時間により Lck の CAR への衝突確率が高くなり細胞内のシグナルへと変換できると示唆される。本成果は CAR 分子の停滞時間の制御により殺傷能が強すぎるといった弱点の克服への有効なエビデンスを示すことができた。

5-①-5.

低酸素周期的加圧培養によるヒト臍帯動脈平滑筋細胞を用いた人工血管の作製

(細胞生理学分野、横浜市立大学医学部産婦人科)

○小嶋 朋之

(細胞生理学分野)

横山 詩子

(横浜市立大学医学部循環制御学教室)

中村 隆、齋藤 純一、石川 義弘

(横浜市立大学医学部産婦人科)

宮城 悦子

【目的】 先天性心疾患の外科的治療では人工血管を用いることが多いが、人工材料は成長しないため、患児の成長に伴い移植部位が相対的に狭窄すること

が問題である。再手術を余儀なくされる患児に対し、成長する人工血管があれば理想的である。我々は血管平滑筋細胞に静水圧を加えることで、細胞から立体構造を構築するために必要なフィブロネクチンの線維形成を促進することを発見した。ラット平滑筋細胞では静水圧を加えることでラット大動脈に移植できる人工血管を作製することに成功したが、ヒト由来の細胞では十分な強度が得られなかった。本研究では静水圧の周期的加圧を低酸素下で行うことで移植に耐えられる人工血管を作製することを目的とした。

【方法】 ヒト臍帯動脈平滑筋細胞 (HUASMC) を播種し 24 時間静置し、低酸素下 (酸素分圧 60 mmHg) で周期的加圧 (110-180 kPa, 0.002 Hz) を加えて培養し、これを繰り返し多層細胞シートを作製した。細胞シートの特性を調べるために張力測定や組織染色を行い、ラットの腹部大動脈に移植した。また RNA シークエンシングや PCR 解析には、1 層の細胞シートを用いた。

【結果】 HUASMC に低酸素下で周期加圧を加えることでより破断応力の高い細胞シートを作製できた。細胞シートを移植したラットは移植後 3 週間、3 ヶ月、5 ヶ月で解剖した。移植した細胞シートの内腔は移植後 3 週間で完全に内皮細胞で覆われていた。ヒト由来細胞は移植後 5 ヶ月で完全に消失し、ラット由来細胞に置換された。また HUASMC を低酸素下で周期的加圧培養すると、低酸素のみや周期的加圧のみよりも乳酸代謝関連の LDHA や PGK1 といった遺伝子発現が亢進していた。さらに複数の TCA サイクルや細胞外基質に関連する遺伝子の亢進が見られた。

【結語】 HUASMC に低酸素下で周期加圧を加えることで、移植可能な細胞シートを作製することができた。HUASMC に低酸素下で周期加圧を加えることで解糖系や TCA サイクルが亢進する可能性が示唆されたが、より強い細胞シートの作製との関連についてさらなる研究が必要である。