



Potential for Respiratory Epithelium Regeneration From Induced Pluripotent Stem Cells

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2017-07-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大槻, 好史 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000086

論文内容要旨

しめい 氏名	おおつき こうし 大槻 好史
学位論文題名	iPS 細胞を用いた気管上皮組織再生の可能性 (Annals of Otology, Rhinology & Laryngology 2013;122(1):25-32)
これまで喉頭気管狭窄や悪性腫瘍手術に伴う広範囲な気管欠損部に対しては皮膚や軟骨の自家組織移植が行われてきたが、侵襲が大きい上、機能・美容上の問題がある。2006 年、山中らはマウス人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) を樹立し、2007 年にはヒト iPS 細胞を樹立した。iPS 細胞は、胚性幹細胞 (ES 細胞) によく似た未分化で多能性を有する細胞で、ES 細胞の倫理的問題や拒絶反応の問題が克服されたといえる。iPS 細胞の分化誘導で得られた気管上皮による気管再生に関しては、世界的にも報告がないのが現状であり、多分化能を有する iPS 細胞を用いて <i>in vitro</i> で質的、量的に気管上皮に近い形で分化誘導が可能となればこの問題を回避できる。 本研究では、気管を構成する組織、特に気管上皮細胞を iPS 細胞より分化誘導することを目的とした。本研究においては、無血清培地に増殖因子を添加しマウス iPS 細胞から気管上皮組織再生を試みた。 まず未分化維持した iPS 細胞のコロニーから胚様体を作成し、気管上皮組織への分化を試みた (実験系 1)。iPS 細胞のコロニーを解離後、低接着性のプレートへ移し 3 日間浮遊培養し胚様体を形成させた。培地は、無血清培地を用いた。増殖因子は、activin A および b-FGF (塩基性線維芽細胞成長因子) を用いた。胚様体をゼラチンコートディッシュへ移し約 2 週間接着培養を行った。増殖因子は 4 条件で行った。1) 無血清培地のみ (コントロール)、2) activin A のみ添加した無血清培地、および 3) bFGF (塩基性線維芽細胞成長因子) のみを添加した無血清培地、4) activin A 及び bFGF を添加した無血清培地のそれぞれにおいて組織学的に気管上皮様組織への分化誘導を確認した。コントロールでは気管上皮様組織は認められず、activin A 及び bFGF を添加した無血清培地で培養した iPS 細胞では、培養 14 日後に線毛形態を有した気管上皮様組織を認めた。さらに効率的に気管上皮様組織を得るための胚様体形成の条件に関する実験を行った (実験系 2)。胚様体形成における細胞数と浮遊培養する日数を変え、分化指向性を検証した。胚様体の維持培養は Air-Liquid-Interface 下に行った。胚様体形成のための細胞数を 500、1000、2000、4000/well、さらに浮遊培養する日数を 3 日、5 日、7 日、9 日とし比較検討した。その結果、細胞数 1000cells/well、浮遊培養 5 日の条件で気管上皮様組織を認めた。(この成果は米の医学雑誌 Laryngoscope に 2013 年 4 月に採択された) iPS 細胞は気管上皮様組織を形成し、気管欠損部における組織再生の可能性が示唆された。	

※日本語で記載すること。1200字以内にまとめること。

学位論文審査結果報告書

平成 26 年 1 月 24 日

大学院医学研究科長様

下記のとおり学位論文の審査を終了したので報告いたします。

氏 名：大槻 好史

学位論文題名：iPS 細胞を用いた気管上皮組織再生の可能性

癌や外傷、炎症、先天性奇形などによる気管切除例には、代替となる気管再建材料の開発は急務である。現在まで大槻らは、頸部気管において自己組織再生誘導型人工気管を開発し、これを足場として複数例に臨床応用し良好な結果を得ている。一方で、気管内腔面上皮化には時間を要し、上皮再生の促進が次の課題であった。これを解決する方法として細胞移植がある。山中らが開発した人工多能性幹細胞（iPS 細胞）は、自己由来体性細胞から作製可能なことから理想的な cell source である。しかし、iPS 細胞由来の気管上皮細胞を用いた気管再生に関しては世界的に報告がないのが現状である。本研究の目的は、気管上皮細胞を iPS 細胞から分化誘導することである。

マウス iPS 細胞を浮遊培養し胚様体を形成させ、様々な条件で分化誘導を行った結果、増殖因子（activin A+b-FGF）を添加した場合に気管上皮様組織を認めた。これらの増殖因子は気管上皮細胞と同じ内胚葉系細胞への分化を促すと報告があり、iPS 細胞から気管上皮細胞への分化誘導に寄与する可能性があると考えられた。また、効率的に気管上皮様組織を得るための胚様体形成の条件を検討した結果、浮遊培養 5 日目に良好な形状・凝集能・接着能を有した胚様体を形成し、さらに細胞数 1000cells とした際に線毛様構造を認めた。これらの条件は、マウス iPS 細胞から気管上皮細胞への分化誘導に適した胚様体形成を促すと考えられた。本研究で得られた培養条件を基にして細胞移植が可能になれば、世界に先駆けた気管上皮再生技術の確立が予想される。

iPS 細胞は自己組織から作製が可能であるため倫理的問題と拒絶反応をクリアできる点で大きな意義がある。本研究を基に、ヒトへの臨床応用を見据え、ヒト iPS 細胞から気管上皮細胞への分化誘導技術を確立すれば、気管再生医療の実用化へ近づくものと考えられた。

以上により、本論文は学位授与に相応しい。

論文審査委員	主査	藤森 敬也
	副査	関口 美穂
	副査	本間 美和子