



|                        |   |
|------------------------|---|
| Title                  | 遺伝子導入技術を用いたiPS細胞由来胸腺上皮細胞の作製と移植免疫応答制御に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]  |
| Author(s)              | 大塚, 亮   |
| Citation               | 北海道大学. 博士(医学) 甲第13430号  |
| Issue Date             | 2019-03-25  |
| Doc URL                | <a href="http://hdl.handle.net/2115/74373">http://hdl.handle.net/2115/74373</a>                                     |
| Rights(URL)            | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a> |
| Type                   | theses (doctoral - abstract and summary of review)  |
| Note                   | 配架番号 : 2444   |
| Additional Information | There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.  |
| File Information       | Ryo_Otsuka_review.pdf (審査の要旨)   |



[Instructions for use](#)

## 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称      博士（医 学）      氏 名 大塚 亮

|       |    |     |       |
|-------|----|-----|-------|
|       | 主査 | 准教授 | 北村 秀光 |
| 審査担当者 | 副査 | 教 授 | 佐邊 壽孝 |
|       | 副査 | 教 授 | 有川 二郎 |
|       | 副査 | 教 授 | 豊島 崇徳 |

### 学 位 論 文 題 名

遺伝子導入技術を用いた iPS 細胞由来胸腺上皮細胞の作製と移植免疫応答制御に関する研究

(Studies on the regulation of immunological reaction in transplantation by thymic epithelial cells derived from induced pluripotent stem cells)

申請者は、iPS 細胞を活用した移植拒絶を制御する新たな方策の確立を目的として研究を行なった。本研究において、遺伝子導入技術を使用し、生体内で T 細胞を分化誘導することのできる機能的胸腺組織を iPS 細胞から効率良く分化誘導する詳細な方法、条件を見出した。さらに同種異系移植モデルを用いて、試験管内で誘導した iPS 細胞由来胸腺上皮細胞を生体内に移植することにより、移植皮膚片に対する免疫寛容が誘導されることを確認した。

審査にあたり、まず副査の佐邊壽孝教授から、iPS 細胞由来の組織を使用した臨床応用に際して、本実験における分化誘導過程で胸腺上皮細胞に生ずる遺伝子変異の可能性について、また Whole exome sequence 等によって、どの程度 iPS 細胞由来分化細胞の遺伝情報が担保されているか否かについて質問あった。申請者は、実際に臨床応用するためには、iPS 細胞の分化誘導の過程で生じるゲノム変異に起因する細胞の腫瘍化の問題を防ぐ必要があり、現在までのところ iPS 細胞から分化誘導した胸腺上皮細胞についてゲノム異常等の解析は行っていないので、今後解析すべき事項であると回答した。次に、副査の有川二郎教授からは、皮膚移植編の生着延長が短期間であることの理由と、その改善策として、本モデルマウスに複数回 iPS 細胞由来胸腺上皮細胞を移植することは可能であるか否かについて質問があった。申請者は、皮膚移植片の生着期間延長については、皮膚移植片拒絶後に事前に移植した胸腺上皮細胞が確認されなかったことから、移植した iPS 細胞由来胸腺上皮細胞が機能的に存在している期間が短期間であることが移植した皮膚の生着に影響している可能性を推察していると回答した。また複数回の移植については、腎被膜下移植後は腹腔内での組織同士の癒着が激しく、同所への複数回移植は困難であると回答した。引き続き、副査の豊島崇徳教授からは作製した胸腺上皮細胞の生存期間と、胸腺上皮細胞への Foxn1 導入の影響について質問があり、申請者は分化誘導後の目的細胞の長期培養とその性状解析は行っていないため、今後、分化誘導した胸腺上皮細胞の生存期間と遺伝子導入に

よる形態や機能への影響について精査する必要があると回答した。また本移植拒絶モデルマウスにおける皮膚移植に際して、現在の免疫不全マウスを用いた移植拒絶モデル系では宿主NK細胞による移植片に対する傷害の可能性を排除できない可能性や、NK細胞除去などの前処置を加えることで効果が上る可能性についての質問があった。申請者は、今後、本移植拒絶モデルの最適化を行うとともに、iPS細胞由来胸腺上皮細胞を使用した移植皮膚拒絶の改善効果について、詳細な作用メカニズムの解明が必要であると回答した。最後に主査の北村秀光准教授からは、Foxn1遺伝子のiPS細胞への導入による胸腺上皮細胞への分化誘導効率の向上について、実際にこれまでの報告と比較し、どの程度の効果かについての質問があった。申請者は過去の報告を完全に再現した実験比較を行っていないため直接の比較は難しいが、少なくともこれまでの報告された実験系による分化誘導系と比較して、分化誘導の効率、割合が向上していると回答した。またFoxn1のウイルスベクターを使用した遺伝子導入ではなく*in vitro*での何らかの因子による刺激による内在性のFoxn1発現を誘導することのできる条件についての質問があり、申請者はFoxn1発現を*in vitro*で誘導する因子は現在のところ明らかになっておらず、現在、申請者はFoxn1の発現制御メカニズムの解明と、より有用な胸腺上皮細胞の作出に関する検討を行っているとは回答した。

この論文は、iPS細胞にFoxn1遺伝子を導入することにより機能的胸腺組織を効率良く作製できること、iPS細胞由来胸腺組織を移植することで、同種異系移植モデルにおける皮膚移植片の生着期間が有意に延長することを証明した点において高く評価され、今後、移植治療における新たな拒絶反応の予防や軽減の方策として期待される。審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。