



Title	マウスiPS細胞から誘導した制御性マクロファージ様細胞によるiPS細胞由来アログラフトの生着延長効果の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	佐々木, 元
Description	配架番号 : 2151
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11669号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59085
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Hajime_Sasaki_review.pdf, 審査の要旨



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 佐々木 元

主査 教授 清野 研一郎
審査担当者 副査 教授 近藤 亨
副査 准教授 北村 秀光
副査 教授 清水 宏

学 位 論 文 題 名

マウス iPS 細胞から誘導した制御性マクロファージ様細胞による iPS 細胞由来アログラフトの生着延長効果の検討

(Induction of immunosuppressive macrophage-like cells from mouse iPS cells that contribute to prolong same iPS cells-derived graft survival in allogeneic recipients)

審査において、iPS 細胞由来制御性マクロファージ様細胞が、同じ iPS 細胞由来の移植片に対し生着延長効果を有することを示した。さらに iPS 細胞由来グラフトと同じ iPS 細胞由来の免疫抑制性細胞をグラフト移植と同時に用いるという新たな免疫制御の戦略を示した。

質疑応答では近藤教授より、マクロファージ以外に Treg など他の免疫抑制性細胞の報告がなされているが、なぜ Treg を研究しなかったのかとの質問に対し、予備研究にて以前に iPS 細胞から Treg を誘導できてはいるが、分化誘導の効率が極めて不良で研究が前進しないという理由で Treg から DCrel の研究に移行したところ今回の制御性マクロファージ様細胞の誘導に成功した経緯があると回答した。また iPS-SCs の in vivo と in vitro における寿命についての質問に対しては、研究の性質上、in vitro で培養を維持する必要がなかったため正確な回答は不能であるが、LPS を培養皿に添加すると半数近くの細胞が死滅することから維持培養は困難であることが予測されると回答した。In vivo においてはマウス骨髄由来 IFN γ マクロファージ研究を引用して、経静脈的に投与した場合においては、24 時間以内は肺で検出が可能であるが、それ以降は検出不能である可能性があるという回答した。さらにグラフト内に iPS-SCs が存在するかどうかの質問に対しては、ES 細胞による先行研究を引用して、グラフト内にレシピエント由来のマクロファージが存在することは証明されたが、iPS-SCs はグラフト内には存在しなかったと回答した。北村准教授からは、グラフト内の T 細胞浸潤はどのように制御されているかの質問に対しては、ES 細胞による先行研究を引用し、無治療のアログラフトにはホストの T 細胞浸潤を認めるが、iPS-SCs で治療するとグラフト内の T 細胞浸潤が軽減されたという回答した。また MLR では iPS-SCs により CD4 の増殖抑制効果を認めたが、CD8 はどのような結果になるかとの問いに対しては、pan T 細胞での MLR の結果を引用して、CD4 と同様に抑制効果を認めたことから CD8 においても抑制効果を認める可能性があるという回答した。さらに臨床応用に向けて、LPS では不適切ではないかとの問いに対しては、マウス骨髄由来 IFN γ マクロファージ研究と本研究の考察を引用して、IFN γ 刺激でも同様に

iPS-SCs を誘導できる可能性があり、その方がより臨床応用には適しており検討課題であると回答した。臨床応用に向けて、iPS-SCs の保存方法についての質問に対しては、iPS-SCs は LPS を添加する前段階の状態で凍結保存および解凍が可能であり、多量のストック保存は可能であると回答した。清水教授からは、誘導した抑制性細胞をマクロファージ様とした理由について質問があり、細部表面分子や遺伝子発現の結果からマクロファージと考えられるが、マクロファージを規定するためには貪食能についても評価されるべきであるが、今回は検討していないため、マクロファージ様という表現にとどめた、と回答した。また iPS-SCs をグラフト移植の前に投与してはどうか、についての質問に対しては、ES 細胞による先行研究を引用し、事前投与では生着日数が伸びなかったため、グラフトと同時に iPS-SCs を投与することで生着日数の延長を期待したが、予想通りの結果にはならなかったと回答した。論文題目の一部において、邦文では制御性マクロファージ様と記載されているのに対し、英文においては immunosuppressive macrophage のみであるとの指摘があったため、immunosuppressive macrophage-like cells に変更すると回答した。清野教授からは、マクロファージ以外の免疫抑制性細胞の可能性について質問があり、造血幹細胞と腎の同時移植によりドナー特異的な免疫寛容誘導の研究を引用し、iPS 細胞由来の造血幹細胞が誘導することが可能であれば望ましいと回答した。しかしながら、これまで ES 細胞へ HOXB4 を遺伝子導入した造血幹細胞を誘導した研究が報告されているが、その後 T 細胞への分化が不完全であったとの報告もあり、現時点で多能性幹細胞由来の造血幹細胞の誘導と維持培養は困難とされると加えて回答した。このように質疑応答では今回の研究内容と現在までの報告・論文に基づき適切な回答が得られた。

この論文は、多能性幹細胞からの免疫制御性細胞の誘導という独創性の高い研究であり、今後の臨床応用が期待される。

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。