

京都大学	博士 (医学)	氏名	眞壁健一
論文題目	Mycoplasma ocular infection in subretinal graft transplantation of iPS cells-derived retinal pigment epithelial cells (iPS 細胞から誘導した網膜色素上皮細胞の網膜下移植におけるマイコプラズマ眼感染症)		
(論文内容の要旨) 【目的】 近年、医療分野においては各種の疾患に対して疾患部位に必要な細胞を移植する再生医療の開発がすすめられている。治療の安全性を確立するために、移植用細胞を介して感染しうる微生物の存在を認識することが重要である。今回 iPS 由来網膜色素上皮細胞 (iPS-RPE) のサルへの移植術後に急性の激しい眼内炎症を発症した症例を経験し、原因究明のための微生物の検出と病態の解析を行った。 【対象と方法】 症例は MHC 合致 iPS-RPE 移植 1 匹 2 眼と MHC 不一致移植 1 匹 1 眼の正常カニクイザルで、他家移植後に眼炎症を発症した。術後の臨床経過をカラー眼底、蛍光眼底造影、光干渉断層計 (OCT) を用いて観察した。手術 1 か月後に対象を安楽死させた後眼球を摘出し、病理組織学的検査を行った。微生物感染による眼炎症が疑われたため移植細胞ストックと症例の硝子体液中に PCR 法と BLAST 解析にて微生物の検出を試みた。症例の血清と感染 iPS-RPE 細胞を用いて感染した微生物に対する抗体の検出を試みた。MHC が一致したサルから採取した血液から末梢血単核球を分離し、マイコプラズマ感染もしくは非感染 iPS-RPE 細胞と共培養して増殖を観察するリンパ球-RPE 細胞混合 (MLR) アッセイを行った。サイトカインアレイで症例の眼内の硝子体液中のサイトカイン、ケモカインの網羅的な測定を行った。 【結果】 1 例目は、術後 1 週目に移植部付近の網膜静脈炎が見られ、2 週目には炎症で眼底透視不能になった。2 例目は術後 1 週で移植部位の網膜下に強い滲出病巣が確認され、2 週間には炎症が増悪した。摘出眼球の病理組織学的検査では網膜循環障害、出血性網膜剥離および多彩な炎症細胞の網膜への激しい浸潤像が観察された。炎症部位への NK 細胞と好中球の浸潤が拒絶反応の炎症と異なる特徴であった。移植細胞ストックと移植後に採取した硝子体液中の PCR 検査からマイコプラズマ DNA が検出され、BLAST 解析でマイコプラズマアルギニーニが同定された。症例サルの移植部位と血清中から感染 iPS-RPE 細胞に沈着する IgG 抗体が確認された。MLR アッセイでは感染のない iPS-RPE 細胞では炎症細胞の増殖が抑制されたが、感染した iPS-RPE 細胞では炎症細胞の増殖の亢進が認められた。サイトカインアレイにて硝子体液中の Th1 関連サイトカイン (IL-12、IL-15、および IFN- γ) および Th1 関連ケモカイン (IP-10、I-TAC、MIG、および RANTES) の有意な増加が観測された。 【結論】 マイコプラズマは炎症を起こす作用があり、移植細胞とともに眼内に侵入すると強い眼炎症を引き起こすことが示された。細胞移植治療に特有のマイコプラズマ感染症を警戒する必要がある。移植治療の安全を担保するためにマイコプラズマの移植前の感染スクリーニングの実施と移植後の感染の早期診断を確立する必要がある。			

(論文審査の結果の要旨)

マイコプラズマは原核生物の 1 つで、培養細胞に感染し、感染した細胞に影響を及ぼすことがすでに知られている。ヒトの臨床では肺炎の原因となることが知られているが、他は未知の面が多い微生物である。近年、再生医療分野では培養細胞を移植する治療法が開発されているが、マイコプラズマが治療用細胞に感染して混入した場合の影響は未知である。感染症の微生物検出の分野でも、PCR 法が臨床応用され、データベースの拡張がなされたので、微生物の検出や種の同定を高感度で迅速に行えるようになった。本研究ではこれらの手法を用いて iPS-RPE 細胞の網膜下移植手術後に重度の眼炎症を生じたサルから *Mycoplasma arginini* の眼内感染を検出した。術後の眼炎症の経時的な臨床症状の経過を追跡し、摘出眼球の病理組織学的な検査を行い炎症の様式を明らかにした。更に、本研究ではリンパ球-RPE 細胞混合アッセイを行い、感染のない RPE 細胞は炎症細胞の増殖に抑制的な作用があるが、*Mycoplasma arginini* が感染した iPS-RPE 細胞は各種炎症細胞の増殖を亢進させることを示した。これらの結果からマイコプラズマが移植細胞とともに眼内に侵入すると強い眼炎症を引き起こすことが解明された。移植術前の移植細胞の微生物同定検査が重要である事が再確認できた。

以上の研究は再生医療に関連した感染症の解明に貢献し再生医療の安全性の確立と発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和元年 6 月 18 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降