

| | | | |
|---|--|-----|------|
| 京都大学 | 博士 (医学) | 氏 名 | 林 泰之 |
| 論文題目 | Comparative study of immunodeficient rat strains in engraftment of hiPSC-derived airway epithelia (ヒト iPS 細胞由来気道上皮移植における免疫不全ラット系統の比較検討) | | |
| (論文内容の要旨) | | | |
| <p>【背景】 手術や外傷後の広範な気管再建のためコラーゲンスポンジとポリプロピレンメッシュで作られた人工気管が臨床応用されてきた。感染予防のため内腔面の早期上皮化は重要と考えられており、これまでに人工気管内腔面をヒト iPS 細胞由来気道上皮細胞シートで覆ったものが開発され、ヌードラットの気管欠損部に移植し生着させることに成功していた。気管ヒト化ラットとして感染症研究や創薬研究などへの応用が期待されているが、移植細胞の機能評価が可能に十分な生着効率は達成されていない。そこで本研究では、レシピエントラットの免疫抑制によるヒト iPS 細胞由来気道上皮細胞生着効率向上を目指し、ヌードラットと、T 細胞に加え B 細胞、NK 細胞も抑制された X 連鎖重症免疫不全症 (X-SCID) ラットにおける移植細胞生着効率及び免疫反応の比較を行った。</p> <p>【方法】 人工気管内腔面をヒト iPS 細胞由来気道上皮細胞シートで覆った移植片をヌードラットと X-SCID ラット各 8 匹の気管欠損部に移植し、移植後 2 週経過した時点で、気管内腔の気道上皮内と気道上皮下間葉組織における移植細胞の生着率を、凍結切片の抗ヒト核抗体による免疫染色により検討した。また移植部位における免疫細胞の集積を検討するため、凍結切片の移植後グラフト内の CD3 (T 細胞マーカー) 陽性細胞数、CD45 (白血球共通抗原) 陽性細胞数、MHC クラス II (抗原提示細胞マーカー) 陽性細胞数を比較した。</p> <p>【結果】 移植部位の全上皮細胞に占めるヒト iPS 細胞由来気道上皮細胞の割合は X-SCID ラットで高い傾向を示したものの、統計学的有意差は認めなかった。一方、移植部位の全間葉系細胞に占めるヒト iPS 細胞由来間葉系細胞の割合は、X-SCID ラットで統計学的により高い値を示した。移植グラフト内の免疫細胞の集積については、CD3 陽性細胞数はヌードラットと X-SCID ラットで統計学的な差は認めなかったが、CD45 陽性細胞数および MHC クラス II 陽性細胞数は X-SCID ラットで有意に低値を示した。</p> <p>【考察】 気道上皮細胞は呼吸や粘液などの刺激に暴露されるため、生着率にばらつきが大きくなり統計学的有意差が認められなかった可能性が考えられる。一方、間葉系細胞ではこれらの刺激を受けないため X-SCID ラットにおいて有意に高い生着率を認めた可能性が考えられる。免疫細胞集積においては、ヌードラット、X-SCID ラットともに T 細胞は機能不全もしくは欠如しているため、移植後の CD3 陽性細胞数は両者で有意な差がなく、CD45 および MHC クラス II 陽性細胞数が X-SCID ラットで有意に低値を示したことから、X-SCID ラットはヌードラットに比べ移植後の免疫応答が抑制されていると考えられた。この結果は、ヒト iPS 細胞由来気道上皮細胞を用いた移植における動物モデルとして X-SCID ラッ</p> | | | |

トがより適している可能性を示している。

【結語】

ヌードラット及び X-SCID ラットへのヒト iPS 細胞由来気道上皮の移植における移植細胞の生着効率は、X-SCID ラットにおいて気道上皮内で高い傾向を示し、間葉組織内では有意に高値であった。また CD45 陽性細胞数および MHC クラス II 陽性細胞数は X-SCID ラットで有意に低値であった。本研究の結果はヒト iPS 細胞由来気道上皮移植による気管ヒト化ラット作製において、X-SCID ラットがより有用であることを示している。

(論文審査の結果の要旨)

内腔面をヒト iPS 細胞由来気道上皮細胞 (hiPSC-AEC) シートで覆った人工気管をヌードラットへ移植した気管ヒト化ラットが確立されたが、これを創薬研究などへ応用するには生着率向上が必要である。そこで、より重篤な免疫不全を示す X-SCID ラットを用いて hiPSC-AEC シートの移植を行い、二週間後に組織を回収して、凍結組織の免疫染色により、生着効率と免疫反応についてヌードラットと比較した。また、移植細胞の足場であるコラーゲンビトリゲル膜成分の違いが生着効率に影響するか比較した。結果、hiPSC-AEC の生着効率は X-SCID ラットで高い傾向を示し、hiPSC 由来間葉系細胞の生着効率は X-SCID ラットで有意に高かった。さらに、グラフトに集積した各免疫細胞数は、T 細胞マーカー CD3 陽性細胞数は差が無く、白血球共通抗原 CD45 陽性細胞数と抗原提示細胞マーカー MHC class II 陽性細胞数は X-SCID ラットで有意に減少した。これらの結果から、ヒト iPS 細胞由来気道上皮細胞の移植による気管ヒト化ラットの作製には、X-SCID ラットの方が有用である可能性が示された。一方、コラーゲンビトリゲル膜成分の比較では差は見られなかった。免疫不全ラットの系統による異種移植後の生着効率や免疫反応の差を検証した知見は乏しく、本論文の結果は気管ヒト化ラットモデルにおける移植細胞の生着効率の向上に向けて新たな知見を与えた。

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 6 年 3 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