

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 二宮 直登

本研究は、現在治療法のない慢性閉塞性肺疾患などの新規治療法を開発することを目的に ES 細胞及び皮膚細胞から肺細胞を作製する技術の開発を行っている。

現在日本人の 10 人に 1 人は肺疾患により命を落としており、慢性閉塞性肺疾患など現在有効な治療法のない肺疾患が多数存在する。これまでに間葉系幹細胞を移植することで肺疾患を治療しようという試みがなされているが、その効果は非常に限定的である。論文提出者は、本研究の第一章において、肺疾患に対する細胞移植治療への応用につなげることを目的とし、マウス ES 細胞を用いて成長因子が肺細胞の分化に与える影響を調べている。さらに第二章では皮膚細胞を直接肺前駆細胞へ転換させる技術の開発を行っている。

第一章では、肺疾患に対する細胞移植治療への応用につなげることを目的とし、マウス ES 細胞を用いて成長因子が肺細胞の分化に与える影響を調べている。ES 細胞は、多能性を持つと同時に半永久的に増殖できることから様々な組織の疾患に対する細胞移植治療のソース細胞として期待されている。これまで ES 細胞を浮遊培養することで作製される胚様体を KSR 培地中で培養することにより、肺細胞の一種である繊毛細胞が形成されることが知られていたが、これらは胚様体を KSR 培地中で培養するという単純な培養系であった。そこで論文提出者は、この培養系に生体において肺発生に関与している可能性のある成長因子を加えることで、より厳密に肺細胞を作り分けることを目指して研究を行った。その結果、BMP4、activin、nodal、TGF $\beta$ 、Shh、FGF1、FGF2、FGF10、RA などを ES 細胞に作用させることが、肺細胞への分化に影響を与えることを明らかにした。特に BMP4 は ES 細胞から肺前駆細胞への分化には抑制的に働き、より後期の分化ステージにおいては BMP4 を加えることで、濃度依存的に肺細胞を作り分けできることが示されている。

第二章では ES 細胞や iPS 細胞の抱える腫瘍化の問題や分化コントロールの技術的問題を解決し、肺の再生医療を早期に実現させることを目指し、皮膚細胞から肺を構成するすべての細胞の元となる肺前駆細胞を 1 ステップで作製する分化転換法の開発を行っている。肺の全ての細胞に分化する胎生期の肺原基(肺前駆細胞の塊)は、マウスにおいて E9.5~E11.5 日目にかけて形成されることが分かっていることから、論文提出者はまず E9.5 予定肺領域, E11.5 肺原基及び E11.5 内胚葉臓器の遺伝子発現量を網羅的に比較し、肺原基で発現量の高い 13 個の候補遺伝子を同定した。さらにこの遺伝子の中から 6 つの遺伝子をマウス繊維芽細胞へ導入することで、繊維芽細胞を肺前駆細胞へ直接転換できることを明らかにした。iPS 細胞の樹立効率が 0.1%程度であるのに対し、本手法による肺前駆細胞の作製効率は、0.06%~0.16%とほぼ同等で、甲状腺、食道、胃、膵臓、肝臓、腸、腎臓、心筋、骨格筋、血液といった他の臓器のマーカーは発現していないことから、肺前駆細胞のみが特異的に作製されていた。さらに本手法によって作製した肺前駆細胞は、Muc5ac、CC10、Aquaporin5 といった分化肺細胞のマーカーを発現する細胞へと変化する能力があることも明らかにした。

論文提出者は、本研究においてまず ES 細胞から肺細胞への分化誘導には BMP4 が重要な働きをしていることを明らかにした。さらに皮膚細胞へ 6 つの遺伝子を導入することで、皮膚細胞を肺前駆細胞様の細胞へと大きく変化させることができることを明らかにした。これらの成果は肺疾患に対する再生医療の実現に大きく寄与するものであり、非常に評価できる。従って、本審査委員は博士(学術)の学位を授与するにふさわしいと認定する。