

[課程一2]

審査の結果の要旨

氏名 宇都 さくら

本研究は軟骨再生医療において iPS 細胞を新規細胞源とするにあたり、第一義に回避すべき腫瘍化の問題に加えて、再生組織を形成するにあたっての費用や技術及び期間を最低限に抑えるためには、iPS 細胞の分散とコラーゲンへの包埋並びに軟骨へ分化誘導を促す刺激で十分であることを明らかにするために、3次元培養や、関節軟骨欠損モデル動物を用いた移植実験を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マウス iPS 細胞を分散後、代表的な医療用コラーゲンであるアテロコラーゲンに包埋し、軟骨分化誘導培地で 3 次元培養した。結果、多能性マーカー遺伝子の発現の経時的な減弱や、中胚葉系マーカー遺伝子や一部軟骨分化マーカー遺伝子の発現の亢進が観察された。以上より、iPS 細胞は分散とコラーゲンへの包埋に加えて軟骨分化誘導培地での 3 次元培養により軟骨細胞系列に分化し得ることが示された。
2. マウス iPS 細胞を分散後アテロコラーゲンに包埋し、iPS 細胞と遺伝的背景が最も近いマウスおよび全く同一のマウスの関節軟骨欠損モデルへ移植し、細胞濃度及び移植期間をそれぞれ 3 段階に振って移植し、組織像にて解析した。結果、iPS 細胞とマウスの遺伝的背景に相違がある移植では、一部で細胞濃度依存的に未熟奇形腫の形成が観察された。一方の iPS 細胞とマウスの遺伝的背景が同一の移植では全群において腫瘍形成は観察されず、また細胞濃度依存的に移植部の組織修復が進んだことが示された。観察された再生軟骨は免疫組織化学染色により移植した iPS 細胞由来であることが示された。
3. 近交系ミニブタ iPS 細胞を樹立し、iPS 細胞の分散とアテロコラーゲンへの包埋並びに軟骨分化誘導培地により 3 週間培養した。結果、多能性マーカー遺伝子の経時的な発現低下と一部の軟骨分化マーカー遺伝子の発現の亢進を観察した。以上より、ミニブタ iPS 細胞においても、分散とアテロコラーゲンへの包埋、並びに軟骨分化誘導培地での 3 次元培養により多能性が減弱し、軟骨細胞系列へ分化することが示された。
4. 近交系ミニブタにおいて、ヒトの変形性膝関節症を模倣した関節軟骨欠損モデルを作製し、分散とアテロコラーゲンへ包埋した iPS 細胞を移植した。なお、大型動物であるミニブタの体重負荷に移植物が耐えられるように足場素材を付与した。結果、観察期間中大きな異常所見は観察されなかった。回収したサンプルにおいて、iPS 細胞移植

したサンプルでは変形性関節症かほとんど惹起されなかったことが示され、また組織像にて一部再生軟骨の形成が観察された。FISH 解析にて再生軟骨がミニブタ iPS 細胞由来であることが示された。

5. 近交系ミニブタ関節軟骨欠損モデルを活用し、ヒト iPS 細胞を分散とアテロコラーゲンへの包埋後に免疫抑制下のミニブタに移植した。結果、観察期間中大きな異常所見は観察されなかった。回収したサンプルにおいて、iPS 細胞移植したサンプルでは変形性関節症かほとんど惹起されなかったことが示され、また組織像にて軟骨様組織の形成が観察された。

以上、本論文は iPS 細胞を細胞の分散とコラーゲンへの包埋に加えて軟骨への分化誘導を促す刺激を与えるだけで腫瘍化を回避し、また再生軟骨を形成し得ることを示した。本研究は iPS 細胞を活用した安全で高効率な軟骨再生医療の実現の第一段階に寄与するものであると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。