



Title	Vascular Network Arising from Vascular Endothelial Stem Cells in the Lung Contributes to Regeneration of Alveolar Epithelial Cells
Author(s)	野田, 成美
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/101795">https://hdl.handle.net/11094/101795</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨  
Synopsis of Thesis

氏名 Name	野田 成美
論文題名 Title	Vascular Network Arising from Vascular Endothelial Stem Cells in the Lung Contributes to Regeneration of Alveolar Epithelial Cells (肺の血管内皮幹細胞より生じた血管ネットワークは肺胞上皮細胞の再生に寄与する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>特発性肺線維症(IPF : Idiopathic Pulmonary Fibrosis)は、原因不明の進行性線維化を来たす肺疾患で、中間生存期間は3-5年と予後不良である。根治治療法は現在も存在せず、病態解明が急務である。近年、血管内腔を裏打ちする血管内皮細胞(Endothelial Cell : EC)が周囲組織にAngiocrine factorと総称される液性因子を分泌し、臓器の維持や再生を促すことが分かってきた。また、過去の研究により臓器内に血管内皮幹細胞(Endothelial stem cell : ESC)が存在することがわかった。IPFにおける血管環境については広範囲の線維化病巣内では毛細血管密度が極端に低下していることがわかっているが、線維化病巣内の血管環境を改善することによる再生治療は試みられていない。このことから私は、血管内皮幹細胞を用いて肺の再生治療を行うことを試みた。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>肝臓においてCD157という細胞表面マーカーを有するECが血管内皮幹細胞(ESC)であることは発見されていたが、肺においても同様にCD157(+)ECが幹細胞性を有するかは分かっていなかった。肺においてタンパク発現レベルおよびRNA発現レベルで局在を確認したところ、肺のECの約7%を占める肺静脈全体でCD157が発現していることがわかった。肝臓と比較し、比較的広範囲に発現していたことから、CD157(+)EC内で多様性がないか、既存のシングルセルデータを用いて再解析を行った。結果、CD157(+)EC内の一剖で発現する細胞表面マーカーであるEPCR(endothelial cell protein C receptor)を同定した。CD157およびEPCRを用いると、フローサイトメトリーにおいて、ECは①CD157(+)EPCR(-)EC、②CD157(+)EPCR(+)EC、③CD157(-)EPCR(-)EC、④CD157(-)EPCR(+)ECの4群に分かれることがわかった。この4群に分けたECを用いて、In vitroにおいてECの増殖能を観察するコロニーフォーミングアッセイを行うと、CD157(+)EPCR(+)ECで有意にコロニー形成能が高いことがわかった。またIn vivoにおける生着能を確認するために、モノクロタリンを用いて血管障害を起こしたマウスに移植したところ、やはり②CD157(+)EPCR(+)ECで有意に生着能が高く、広範囲の毛細血管領域に分化し生着していることがわかった。以上より肺においてCD157(+)EPCR(+)ECがESCであることが発見された。</p>	
<p>次に、線維化の生じる微小環境におけるECの病態への寄与を評価するため、肺胞上皮細胞における組織幹細胞である2型肺胞上皮細胞と線維芽細胞、ECを共培養するオルガノイド培養実験系を開発した。これまで2型肺胞上皮細胞と線維芽細胞を用いたオルガノイド培養系は確立されていたが、マウスの組織を用いたオルガノイド培養実験において肺の血管構築を再現した実験系は確立されていなかった。CD157およびEPCRを用いた4群を用いて培養実験を行ったところ、ESCであるCD157(+)EPCR(+)ECとの共培養によって、ECのネットワークを再現したオルガノイド培養系の確立に成功した。この新規確立したオルガノイド培養実験系を用いて、肺線維症モデルマウスの肺胞上皮障害へのESCの再生能力の有無を検証した。ブレオマイシンを気管内投与し1週間経過し肺線維症が生じるタイミングで2型肺胞上皮細胞と線維芽細胞を単離し、障害のない無処置のマウスより単離したESCと培養した群とESCなしで培養した群で2型肺胞上皮細胞のオルガノイド形成能を比較した。結果、ESCなしではほぼ2型肺胞上皮細胞のオルガノイドが形成されなかつた一方で、ESCと共に培養した群で2型肺胞上皮細胞のオルガノイド形成が確認された。以上より、ESCによる血管再生は傷害を受けた2型肺胞上皮細胞の再生を促すことがわかった。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
CD157(+)EPCR(+)ECは肺に置いて血管内皮幹細胞として機能し、幹細胞から形成される血管内皮ネットワークは傷害された肺胞上皮細胞の再生を促す。	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 野田 成美	
	(職) 氏名
論文審査担当者	主 査 大阪大学教授 林 克彦 謄 名
	副 査 大阪大学教授 井上 大地 謄 名
	副 査 大阪大学教授 丸澤 高則 謄 名

## 論文審査の結果の要旨

肺は重度の炎症により不可逆的な組織破壊と機能障害を引き起こすが、現在の根本的な治療法は侵襲的な移植手術のみである。近年、血管内皮細胞はアンジオクライン因子を放出し臓器維持・再生を促すこと、また増殖能や分化能が多様であり幹細胞や前駆細胞が存在することが分かってきたが、肺における血管内皮幹細胞の存在や、血管内皮細胞による治療応用の可能性は未解明であった。本研究では、肺のCD157(+)EPCR(+)血管内皮細胞が幹細胞として機能することを示した。また、血管内皮幹細胞を用いて、II型肺胞上皮細胞との新規オルガノイド培養系を確立した。このオルガノイド培養系を用いて、傷害された肺胞上皮が血管内皮幹細胞から作られた血管内皮ネットワークにより再生が促進することを示した。肺の血管内皮幹細胞は肺疾患の治療に応用できる可能性があり、本論文は学位の授与に値すると考えられる。