



Title	CD157+ vascular endothelial cells derived from human-induced pluripotent stem cells have high angiogenic potential
Author(s)	田辺, 薫佳
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101887
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

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

氏名 (田辺 薫佳)	
論文題名	CD157 ⁺ vascular endothelial cells derived from human-induced pluripotent stem cells have high angiogenic potential (ヒト iPS 細胞由来 CD157 ⁺ 血管内皮細胞は高い血管新生能を持つ)
論文内容の要旨	

血管内皮細胞は血管の主な構成細胞であり、酸素や栄養素の物質交換などホメオスタシスに寄与している。また、生体内には組織幹細胞が存在しており、生体内の臓器が損傷を受けた際の修復に寄与しているといわれている。先行研究では、マウス組織において CD157 (BST1) 陽性の血管内皮細胞が血管の再構築に寄与していることを明らかにした。一方でヒト組織では、マウス組織と同様に CD157 陽性の血管内皮細胞が血管の再構築に寄与しているのかについての知見が得られていなかった。このことから私は、ヒト由来 iPS 細胞を用いた研究により、CD157 陽性の血管内皮細胞がヒト組織でも高い血管形成能力を持つ可能性があるのかについて検討を行った。

最初に、ヒト由来 iPS 細胞を血管内皮細胞に分化させ、CD157 の発現が見られるのかをフローサイトメトリーおよび qPCR を用いて解析した。フローサイトメトリーの結果、血管内皮細胞のマーカーである CD31 陽性の細胞は分化誘導 9 日後に出現し、その後も発現が維持されることがわかった。CD157 陽性の血管内皮細胞は分化誘導 11 日後から発現が見られ、14 日後には血管内皮細胞の 80 % が CD157 陽性となることが判明した。その後 CD157 陽性の血管内皮細胞の割合は減少し、CD157 陰性の血管内皮細胞の割合が増加した。分化誘導 24 日後の細胞では、血管内皮細胞の 10 % が CD157 陽性となり、残りの 90 % が CD157 陰性の血管内皮細胞となることが判明した。qPCR の結果では、CD157 の発現は分化誘導 11 日後から見られ、14 日後に発現がピークとなった後、24 日後まで減少し続けることがわかり、フローサイトメトリーの結果と一致する結果が得られた。次に、分化誘導 14 日後の血管内皮細胞と 24 日後の血管内皮細胞において、網羅的遺伝子解析を行った。その結果、14 日後の血管内皮細胞で Tie2 (TEK)、APJ (APLNR)、VEGFC、NPR2 などの血管形成に関係する遺伝子が上昇した。一方で、24 日後の血管内皮細胞ではこれらの遺伝子は減少した。また、tube formation assay により、分化誘導 11 日後、14 日後、24 日後の血管内皮細胞における血管形成能を確かめた。その結果、14 日後と 24 日後の細胞で管腔状の血管形成がみられ、24 日後と比較して 14 日後の血管内皮細胞で血管の節の数、分岐の数、長さの合計が増加した。分化誘導 11 日後の血管内皮細胞では管腔状の血管形成は見られなかった。また、分化誘導 14 日後から CD157 陽性の血管内皮細胞、分化誘導 24 日後から CD157 陰性の血管内皮細胞をそれぞれ分離し、免疫不全マウスの下肢虚血モデルに移植した。移植から 2 週間後にフローサイトメトリーにより、ヒト血管内皮細胞の生着率を解析した結果、24 日後の血管内皮細胞を移植したマウスと比較して 14 日後の血管内皮細胞を移植したマウスでヒト血管内皮細胞の生着率が高かった。

本研究から、ヒト由来 iPS 細胞から分化した血管内皮細胞で CD157 は血管内皮細胞の分化の初期では発現せず、分化誘導から 14 日後に発現がピークとなることがわかった。また、tube formation assay の結果より、CD31 のみが発現している時期の血管内皮細胞では、管腔状の血管形成が観察されなかった。これは、CD157 が血管発生時の脈管形成において発現する分子ではなく、出生後の血管形成において重要細胞に発現する分子であることを示唆している。また、網羅的遺伝子解析の結果から CD157 の発現がピークとなる時期に血管形成に寄与する遺伝子が上昇したことや、tube formation assay の結果から、ヒト由来 iPS 細胞から分化した血管内皮細胞では CD157 陽性の血管内皮細胞が血管形成に大きく寄与する可能性がある。そして、免疫不全の下肢虚血モデルマウスでの移植実験の結果、CD157 陽性の血管内皮細胞でヒト血管内皮細胞の正着率が高かったことから、CD157 陽性の血管内皮細胞は生体内において血管形成誘導能が高いことが判明した。これらのことから、ヒト組織でもマウス組織と同様に CD157 陽性血管内皮細胞が血管の再構築を行う組織幹細胞としての役割を持つ可能性が考えられた。

論文審査の結果の要旨及び担当者

	氏名 (田辺 薫佳)	氏名
	(職)	
論文審査担当者	主査 教授	高倉 伸幸
	副査 教授	妻木 範行
	副査 教授	原 英二
	副査 教授	石谷 太

論文審査の結果の要旨

血管新生は既存の血管から新しく血管の分岐が形成される過程である。創傷治癒などの生理的な過程でも血管新生は観察されるが、がんや糖尿病性網膜症などの過程でも観察される。このような血管新生を正や負に制御することで病態を改善する治療的血管新生の治療法に注目が集まっている。ただし、この血管新生に関わる機序の全般が理解されているわけではない。特に、血管構築には欠かせない、血管の内腔を形成する血管内皮細胞に関しては、他の臓器に観察されるような体性幹細胞分画の細胞が存在しうるか否かが、従来明確ではなかった。そこで、本研究では、マウスで明らかにされてきたように、ヒトにおいても、既存血管中のCD157陽性の血管内皮細胞に血管新生誘導能があるのかどうかを解析した。本研究ではヒトiPS細胞からの血管内皮細胞への分化誘導系を用い、中胚葉から血管内皮細胞が発生、そして分化している過程での、血管内皮細胞の表現型・遺伝子型を解析し、また試験管内及び免疫不全マウスを用いた下肢虚血モデルを駆使して、ヒトの血管内皮細胞においても、CD157陽性細胞が血管新生の中心的役割を果たす細胞であることを見出している。本研究は、血管再生といった社会実装にもつながる優れた研究であり、博士の学位を授与するに値すると認める。また、本論文はiThenticate2.0を利用して剽窃、引用漏れ、2重投稿などのチェックを終えている。