The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Teratocarcinomas Arising from Allogeneic Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiac Tissue Constructs Provoked Host Immune Rejection in Mice
Author(s)	河村, 愛
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61545
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

[Format-P02]

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	河村　愛
論文題名 Title	Teratocarcinomas Arising from Allogeneic Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiac Tissue Constructs Provoked Host Immune Rejection in Mice （iPS細胞由来心筋組織の他家移植後に発生する悪性奇形腫は宿主免疫拒絶により制御され得る）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

重症心不全に対するiPS細胞由来心筋組織の移植治療が期待されているが、その実用化に向けては、iPS細胞の腫瘍原性が最大の障害と考えられている。安全な移植治療のためには、腫瘍化のリスクをいかに抑えるかに加え、腫瘍の診断方法や制御方法についても詳細な検討が必要であるが、これらについての報告は未だ殆どなされていない。我々は、臨床応用の際に想定される免疫抑制下他家移植モデルにおいて、移植後に発生するteratocarcinomaが免疫抑制剤の中止による宿主免疫の賦活化により制御し得るという仮説を立て、これを実証するべく実験を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

ルシフェラーゼ遺伝子を導入したC57BL/6マウス由来iPS細胞を心筋細胞へ分化誘導後、細胞シートを作製した。分化誘導後の細胞集団は、flow cytometryでは未分化マーカーであるSSEA-1陽性細胞が3-9%、心筋マーカーであるtroponinT陽性細胞が67-85%含まれていた。

細胞シートを自家移植モデル（C57BL/6マウス、n=4）、免疫能正常他家移植モデル(BALB/cマウス、n=3)、免疫抑制下他家移植モデル（タクロリムス持続皮下投与BALB/cマウス、n=3）の心臓表面に貼付し、移植細胞の蛍光を生体内イメージングで追跡した。結果、免疫能正常他家移植モデルでは速やかに蛍光が消失したが、自家移植モデルおよび免疫抑制下他家移植モデルでは経時的に蛍光の増強を認め、移植後14日目にsacrificeしたところ全例teratocarcinomaの形成が確認された。

次に自家移植モデル(n=12)および免疫抑制下他家移植モデル(n=17)におけるteratocarcinomaの形成が、移植後3/5/7/10日目のどの時点で、FDG-PET,単純CT,造影MRIなどの臨床応用可能な診断ツールにより診断可能かどうか検討したところ、組織学的には移植後7日目の時点でteratocarcinomaの発生を認め、この時点ではFDG-PETのみが診断可能であった。

この結果より、免疫抑制下他家移植モデルを、移植後7日目の時点で免疫抑制剤を中止する群(n=7)と継続する群(n=8)に分け、生体内イメージングによる腫瘍蛍光の追跡および生存率を比較した。結果、免疫抑制剤継続群では、経時的な腫瘍蛍光の増強および52日間の観察期間に6/7匹（85.7%）にteratocarcinomaを認め、4/7匹（57.1%）が腫瘍の増大により死亡したのに対し、免疫抑制剤中止群では腫瘍蛍光の減退・消失を認め、観察期間終了時点では全例腫瘍の残存が認められなかった（n=0/8、0%）。中止群は全例が生存可能で、生存率は継続群と比較して有意に高値であった(log rank; $p<0.05$)。

腫瘍に対する免疫反応の主要な機構を解明するべく、腫瘍組織のCD4/CD8/NKp46による免疫染色を行ったところ(n=9)、中止群の腫瘍組織内にはCD8陽性細胞優位のT細胞の浸潤が認められたが、NK細胞はほとんど認められなかった。腫瘍組織を分離し、腫瘍内部に存在するCD8/NKp46陽性細胞割合をflow cytometryを用いて検討すると（n=3）、中止群で有意にCD8陽性細胞割合が高かった。腫瘍細胞と脾臓リンパ球を共培養する混合リンパ球反応の結果も同様に(n=3)、CD8陽性細胞のみが有意な増殖を示した。以上より、免疫抑制剤中止後の腫瘍の拒絶は、CD8陽性T細胞主体の宿主免疫反応によるものと考えられた。

〔総　括(Conclusion)〕

他家iPS細胞由来心筋組織移植後に発生するteratocarcinomaは、免疫抑制剤中止によるT細胞主体の宿主免疫反応の賦活化により制御され得る可能性が示唆された。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　河村　愛

論文審査担当者		（職）	氏　名
	主　査	大阪大学教授	澤　芳樹
	副　査	大阪大学教授	坂田泰史
	副　査	大阪大学教授	中谷　毅

論文審査の結果の要旨

iPS細胞の腫瘍原性は、iPS細胞由来心筋組織の移植治療において最大の障害であり、腫瘍化のリスクをいかに抑えるかに加え、腫瘍の診断方法や制御方法についての検討が必須である。学位申請者の河村愛らは、臨床応用で想定される免疫抑制下他家移植モデルを作成し、心臓表面にマウスiPS細胞由来心筋組織シートを貼付すると移植後7日目の時点でteratocarcinomaの発生を認め、FDG-PETにより診断が可能であることを示した。続いて移植後7日目に免疫抑制剤を中止することにより、腫瘍が拒絶されることを示した。さらに腫瘍の拒絶に係る免疫機構について検討し、CD8陽性T細胞による細胞性免疫が主体であることを示した。

iPS細胞由来心筋組織の移植後に発生する腫瘍が、免疫抑制剤の中止による宿主免疫の賦活化により制御し得るということを示した本研究は、iPS細胞移植治療において非常に重要であり、学位に値するものと考える。