The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Transcriptionally distinct mesenchymal stem/stromal cells circulate in fetus
Author(s)	岡田, 愛子
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/73455
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-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　岡田　愛子

論文審査担当者		（職）	氏　名
	主　査	大阪大学教授	木村　正
	副　査	大阪大学寄附講座教授	中村啓俊
	副　査	大阪大学教授	澤井英夫

論文審査の結果の要旨

臍帯血に含まれる間葉系幹/間質細胞(MSC)は臨床応用されているが、まだ不明な点の多い胎児血のMSCの性質について解明することを目的とした研究報告である。まず胎生期から成体への発生の過程における末梢循環性MSCの数的変化について、PDGFRαプロモーターGFPノックインマウスを用いて検討した。胎仔末梢血中には3週令と比較し多くのPDGFRα陽性細胞が存在し、経時的変化解析によってその割合が生直後に速やかに消失すること示した。次に胎仔末梢血培養細胞が、成体と同様に脂肪、骨、軟骨への分化能を有することを示した。さらに胎仔末梢血MSCの性質を明らかにするために、single cell レベルの遺伝子発現解析を行ったところ、胎仔末梢血MSCには複数の機能的亜集団が存在することを示した。今回の発見は、胎生期末梢血MSCの機能を解析するための基礎を築き、臍帯血を用いた再生医療の基盤となると考える。

上記内容は、学位に値するものと認める。

論　文　内　容　の　要　旨

Synopsis of Thesis

氏　名 Name	岡田　愛子
論文題名 Title	Transcriptionally distinct mesenchymal stem/stromal cells circulate in fetus （胎生期末梢循環には特異的な遺伝子発現プロファイルを有する間葉系幹/間質細胞が存在する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

臍帯血には、造血幹細胞(HSC)に加え間葉系幹/間質細胞(MSC)が含まれており、再生医療の移植源として注目されている。臍帯血は胎児末梢血に由来することから、胎児末梢血中には成体より多くのMSCが循環していると考えられるが、胎児末梢血に循環するMSCの性質については不明な点が多い。そこで我々は、マウス胎生期末梢血に循環するMSCを定量化し、胎生期から出生後までの経時的変化を明らかにするとともに、マウス胎生期末梢血MSCの機能についても明らかにすることを目的として本研究を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

まず、胎生期から成体への発生の過程における末梢血に循環するMSCの数的変化について調べた。骨髄中のPlatelet-derived growth factor receptorα(PDGFRα)陽性細胞は、中胚葉だけでなく外胚葉組織にも分化し、MSCの特異的なマーカーであると考えられている。骨髄PDGFRα陽性細胞は広範囲の組織障害が起きると末梢循環に動員され、組織再生に寄与することも知られている。そこでPDGFRαプロモーターGFPノックイン（Pα-GFP）マウスを用いて胎仔末梢血に循環するPDGFRα陽性細胞数をFACSにて解析した。胎生18.5日では血液中の有核細胞におけるGFP陽性細胞は0.28%であったのに比べ3週令では0.018%であり、胎仔末梢血には生後より多くのPDGFRα陽性細胞が存在することがわかった。さらにマウス末梢血に循環するMSCの経時的変化を調べるために、胎生18.5日目から5週令までの1週令おきに同様の解析を行ったところ、血液中の有核細胞におけるGFP陽性細胞の割合は生後1週令から2週令にかけて速やかに減少することが明らかになった($p<0.01$)。

次にC57/BL6マウス胎生18.5日の末梢血を培養し採取したMSCを用いて、胎仔末梢血MSCの機能解析を行った。まず分化能について調べたところ、成体MSCと同様に胎仔末梢血MSCは間葉系細胞への分化能を有していた。次に胎仔末梢血MSCのsingle cell レベルのトランスクリプトーム解析を行った。tSNE（t-distributed Stochastic Neighbor Embedding）プロットを用いた解析において、胎仔末梢血MSCには３つの機能的亜集団が存在した。それぞれの集団で特徴的に発現する遺伝子はFoxc1, Snai2, Shox2であった。またICGS（Clustering and Guide gene Selection)解析においても胎仔末梢血MSCは３つの亜集団から形成された。ICGSにおけるGene Ontology解析においても、それぞれの集団はNeural Crest, Aorta smooth Muscle cells, Adipocytesと関連が強く、異なる遺伝子セットと強い関連を示した。

〔総　括(Conclusion)〕

本研究において、胎仔末梢血には成体より多くのMSCが存在するだけでなく、生後1週令から2週令にかけて速やかに減少することが明らかになった。さらに胎仔末梢血MSCには遺伝子発現の異なる機能的亜集団が存在することがわかった。胎生期は末梢循環を介してMSCが臓器や組織へ供給されることで、胎仔の発生が支えられていると考える。本研究は胎児末梢血MSCの機能を解析するための基礎を築き、臍帯血を用いた再生医療の基盤となると考える。