

Title	Adipose Tissue-Derived Stem Cells Have the Ability to Differentiate into Alveolar Epithelial Cells and Ameliorate Lung Injury Caused by Elastase-Induced Emphysema in Mice
Author(s)	福井, 絵里子
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/73526
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 福井 絵里子

	(職)	氏名
論文審査担当者	主査	大阪大学教授 新谷 康
	副査	大阪大学教授 菊池 尊
	副査	大阪大学教授 熊 御 淳

論文審査の結果の要旨

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) は年々増加しているが、根治的な治療が確立されておらず、再生医療の実用化が期待されている。脂肪組織由来幹細胞 (ADSCs) は細胞治療のソースとして注目されているが、COPD の病態に及ぼす効果は詳細には解析されていない。本研究ではエラストラーゼ誘導肺気腫モデルマウスを用いて ADSCs の効果とそのメカニズムを検証した。

まず ADSCs が *in vitro* で II 型肺胞上皮 (AT II) 細胞へ分化誘導が可能であることを示した。COPD モデルマウスに ADSCs を投与すると、気腫肺内に ADSCs の集積を認め、免疫染色や FACS でその一部に AT II 細胞マーカー陽性の細胞を認め、肺内でも AT II 細胞へ分化する可能性が示唆された。また ADSCs は COPD モデルマウスの気腫性変化と呼吸機能を改善させた。これらにより ADSCs が肺胞上皮細胞へ分化する可能性を有し、生体投与により肺損傷修復の過程で細胞供給源になる可能性を示唆された。本研究は COPD の新規再生治療の確立へ貢献するものであり学位に値すると考える。

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	福井 絵里子
論文題名 Title	Adipose Tissue-Derived Stem Cells Have the Ability to Differentiate into Alveolar Epithelial Cells and Ameliorate Lung Injury Caused by Elastase-Induced Emphysema in Mice (脂肪組織由来幹細胞は2型肺胞上皮細胞への分化能を有しモデルマウスにおいて肺気腫を改善する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease; COPD) は年々増加しており、世界の死亡原因において上位を占めている。しかし根治的な治療が確立されておらず、再生医療の実用化が期待されている。近年、脂肪組織由来幹細胞 (Adipose tissue derived stem cells; ADSCs) を用いた幹細胞治療は様々な治療に試みられており、新たな治療法として期待されている。COPDに対しても動物モデルにおいて病態改善に有用であることが報告されており、バラクライン効果などのメカニズムが報告されている。しかし、詳細な呼吸機能の解析やADSCs 自体が組織構成細胞へと分化し細胞供給源となる作用については十分には明らかになっていない。そこで今回、ADSCのII型肺胞上皮細胞への分化能と肺障害モデルマウスに対するADSCsの有効性を検討した。</p>	
〔方法 (Methods)〕	
<p>①マウス皮下脂肪からADSCを単離・培養し、脂肪・骨・軟骨への分化誘導を行った。また末梢気道成長培地で分化誘導し、肺胞上皮細胞へ分化可能かを検討した。</p> <p>②エラスターゼ (PPE) 気管内投与肺気腫モデルマウスを作成し、3日目にADSCs (5×10^5 cells/匹\times2回) を尾静脈から投与した。PPE+/ADSC+, PPE+/ADSC-, PPE-/ADSC+, PPE-/ADSC-の4群に分け、1週間後と3週間後に肺気腫の改善効果を組織学的・機能的に評価した (n=5)。</p> <p>③②と同様に、エラスターゼをマウスに気管内投与し肺気腫モデルを作成し、3日目にGFPで標識したADSCsを尾静脈投与した。投与1週間後と2週間後に肺を摘出し、ADSCの集積を評価した。さらに、フローサイトメトリー・免疫染色で集積したADSCsの分化を検討した。</p>	
〔結果 (Results)〕	
<p>①採取したADSCは、分化誘導により脂肪、骨、軟骨へ分化した。またADSCを肺胞上皮細胞への分化誘導培地で培養すると、分化前のADSCで発現していないTTF-1 や SPB、SPC の肺胞上皮マーカーの発現を認めた。分化誘導したADSCでは電子顕微鏡でII型肺胞上皮細胞の構造物であるlamellar body様の構造物を認めた。</p> <p>②呼吸機能検査では気道コンプライアンスでPPE+/ADSC-群 (n=4) $60 \mu\text{l}/\text{cmH}_2\text{O}$; PPE+/ADSC+群 (n=4) $50 \mu\text{l}/\text{cmH}_2\text{O}$ と改善を認め ($P < 0.01$)、Hyperpolarized ^{129}Xe MRI ではガス交換率においてPPE+/ADSC-群 (n=7) 4.8% ; PPE+/ADSC+群 (n=6) 7.8% と改善を認めた ($P < 0.05$)。さらに組織学的評価では、平均肺胞壁間距離が PPE+/ADSC-群 $57.8 \mu\text{m}$; PPE+/ADSC+群 $29.8 \mu\text{m}$ ($P < 0.0001$)と気腫性変化の改善を認めた。</p> <p>③PPE+/ADSC+群では気腫肺内にADSC集積を認め、集積したADSCの一部に肺胞上皮の発生初期マーカーであるTTF-1やII型肺胞上皮細胞のマーカーであるSPB、SPC陽性細胞を認めた。エラスターゼとADSCを投与したマウスの肺からGFPで細胞をソーティングしたところGFP陽性細胞を認めた。GFP陽性細胞を分取してPCRを施行すると、II型肺胞上皮細胞マーカーの発現を認めた。フローサイトメトリーの結果、GFP陽性でSPC陽性の細胞、すなわち肺気腫モデルマウスの肺に集積したADSCsのうち、II型肺胞上皮細胞に分化したADSCsは46.3%であった。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>ADSCは多分化能を有しII型肺胞上皮細胞へ分化する可能性があり、生体投与により肺障害部位への集積を認めた。ADSCは肺損傷修復の過程で、細胞供給源になる可能性が示唆された。</p>	