

Title	PAX6-positive microglia evolve locally in hiPSC-derived ocular organoids
Author(s)	Shiraki, Nobuhiko
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/89472
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 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	白木 暢彦
論文題名 Title	PAX6-positive microglia evolve locally in hiPSC-derived ocular organoids (PAX6陽性のミクログリアはヒト幹細胞由来の眼オルガノイドに局所的に発生しうる)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>Purpose; Microglia are the resident immune cells of the central nervous system (CNS). The CNS is inaccessible to immune cells in general circulation owing to the presence of the blood-brain barrier. Instead, microglial cells in the brain and spinal cord provide the CNS with its immune protection. Microglia deliver immune protection for the posterior eye, including the neural retina, and have involvement with some sight-threatening conditions, such as age-related macular degeneration, uveitis and glaucoma and retinal degeneration. However, it is not known how microglia develop in the eye.</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>Methods; We studied human-induced pluripotent stem cells (hiPSCs) that had been expanded into a self-formed ectodermal autonomous multi-zone (SEAM) (Hayashi et al. Nature 2016;531:376-380) of cells that partially mimics human eye development. We searched and investigated microglia-like cells, and sorted the cells. After that, we examined them by qPCR, cytokine analysis, RNA-seq and single-cell RNA-seq.</p>	
<p>Results; We generated 2D eye-like organoids from hiPSCs, which we discovered contained immune cells with significant similarity to microglia cells. RNA-sequencing data and qPCR, moreover, showed that the cells are more similar to primary microglia cells than to human immortalised microglia. The results of functional stimulation assays revealed that PPM cells likely govern immune tolerance in ocular tissue. Single-cell RNA sequencing further indicates that they resemble yolk sac-derived myeloid progenitors and not macrophages.</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>Conclusions; Our results indicated that microglia-like cells, which have characteristics of yolk sac-like lineage cells, naturally develop in two-dimensional eye-like SEAM organoids, which lack any vascular components. These cells are unique in that they are paired box protein 6 (PAX6) positive, yet possess some characteristics of mesoderm. Our data support the possibility of the existence of an isolated, locally developing immune system in the eye, which is independent of the body's vasculature and general immune system.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 白木 暢彦	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 西田 幸子
	副 査 大阪大学教授 藤山 通教
	副 査 大阪大学寄附講座教授 長野 清一
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>中枢神経系は血液脳関門の存在により、一般に流通する免疫細胞にはアクセスできない。ミクログリアは、神経網膜を含む後眼部の免疫保護を担っており視力を脅かす疾患に関与している。一方、ミクログリアが眼球内でどのように発生するかは分かっていない。</p> <p>筆者らは、ヒトの眼の発生を模倣した眼オルガノイドを用いて研究した。その結果、ヒト幹細胞から誘導した眼オルガノイドにミクログリア様の細胞が含まれており、その細胞はヒト不死化ミクログリアよりも初代ミクログリア細胞に類似していることが示された。細胞の単離を行い、解析した所、眼の免疫寛容を支配している可能性が高く、卵黄嚢由来の骨髄系前駆細胞に類似していることが示された。この研究により、眼ミクログリア様細胞が血管成分を持たない眼オルガノイドの中で自然に発生することが示された。この細胞はpaired box protein 6 (PAX6)陽性でありながら、中胚葉の特徴を有している点がユニークである。この発表は、局所的に発達する免疫系が眼球に存在する可能性を支持するものであり、学位に値するものと認める。</p>	