The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Identification of BST2 as a conjunctival epithelial stem/progenitor cell marker
Author(s)	北尾, 匡弘
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/95925
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
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	北尾　匡弘
論文題名 Title	Identification of BST2 as a conjunctival epithelial stem/progenitor cell marker （新規結膜上皮幹・前駆細胞マーカー「BST2」の同定）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

角膜上皮幹細胞は角膜輪部に存在し、複数の特異的マーカーを発現している。その一方で、結膜上皮幹細胞については結膜円蓋部に存在していることが示唆されるものの、特異的マーカーは報告されておらず、その局在や分子機構の詳細は不明である。これまでに我々は、ヒト多能性幹細胞(iPS細胞)より誘導される二次元の眼様オルガノイド(SEAMと命名)を用いることで、ヒト多能性幹細胞から角膜上皮細胞や結膜上皮細胞を誘導可能かつそれぞれの幹・前駆細胞を誘導できることを確認している。そこで本研究では、このSEAM技術とシングルセルRNA-Seqを利用した、新規結膜上皮幹・前駆細胞マーカーの探索と同定を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

ヒトiPS細胞から誘導された結膜上皮細胞集団と角膜上皮細胞集団を、それぞれシングルセルRNA-Seqによる解析を行った結果、複数の新規結膜上皮マーカー(BST2, SLC2A3, AGR2, TMEM54, OLR1, TRIM29)を同定することに成功した。中でもBST2は結膜円蓋部を含む結膜上皮の基底部で強く発現している一方、角膜上皮には発現していなかったため、BST2を結膜上皮幹・前駆細胞マーカーの候補として検討を行った。まずSEAM法を用いて結膜上皮誘導を行ったヒトiPS細胞に対し、抗BST2, CD104, CD200抗体を用いたFACSにより結膜上皮幹・前駆細胞の単離を試みた。その結果、結膜上皮幹・前駆細胞と推定されるBST2陽性細胞（BST2+/CD104+/CD200-）が分化誘導後の細胞集団に一定数存在することを確認した。さらに単離したBST2陽性細胞に対し重層化培養を行った結果、MUC5AC陽性の杯細胞を含む結膜上皮組織を作製することに成功した。一方で、BST陰性細胞（BST2-/CD104+/CD200-）では結膜杯細胞は誘導されなかった。またコロニー形成試験を実施したところ、BST2陽性細胞集団はBST2陰性細胞集団に比較して有意に高いコロニー形成能を示した。

〔総　括(Conclusion)〕

BST2は結膜円蓋部の上皮基底部に存在し、また、細胞表面マーカーとして用いることで、結膜杯細胞や結膜上皮細胞に分化可能な幹・前駆細胞を単離することが可能であったことから、BST2は結膜上皮幹・前駆細胞マーカーであると考えられた。BST2を含む新規結膜上皮マーカー群を利用し、これまで不明であった結膜上皮幹細胞の特性を詳細に検討できるだけでなく、結膜発生研究や再生医療研究への応用が期待できる。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　北尾　匡弘

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	西田幸二
	副　査	大阪大学教授	妻木範行
	副　査	大阪大学教授	辻川元一

論文審査の結果の要旨

本研究ではBST2を新規結膜上皮幹・前駆細胞マーカーとして同定した。角膜上皮幹細胞は角膜輪部に存在し、複数の特異的マーカーが報告されている一方で、結膜上皮幹細胞については結膜円蓋部に存在していることが示唆されるものの、特異的マーカーは報告されておらず、その局在や分子機構の詳細は不明であった。

本研究ではヒトiPS細胞から分化誘導した角膜上皮細胞・結膜上皮細胞に対しシングルセルRNA-seq解析を行い、比較解析することで、複数の新規結膜上皮マーカーを同定した。特に、BST2は結膜円蓋部の上皮基底部に存在し、細胞表面マーカーとして用いることで、結膜杯細胞や結膜上皮細胞に分化可能な幹・前駆細胞を単離することが可能であったことから、結膜上皮幹・前駆細胞マーカーであると考えられた。BST2を含む新規結膜上皮マーカー群を利用し、これまで不明であった結膜上皮幹・前駆細胞の特性を詳細に検討できるだけでなく、結膜発生研究や再生医療研究への応用が期待される。

上記の理由により、本研究は学位授与に値するものと認める。