

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 ( 医学 )	氏名	高尾 俊
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項 2 項該当		
論文題目 Human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells cultured in serum-free media demonstrate enhanced antifibrotic abilities via prolonged survival and robust regulatory T cell induction in murine bleomycin-induced pulmonary fibrosis (無血清培地で培養したヒト骨髄由来間葉系幹細胞は、マウスブレオマイシン肺線維症モデルにおいて、細胞生存と制御性 T 細胞誘導を促進して、抗線維化作用を向上させる)			
論文審査担当者			
主 査	教授	岡田 守人	印
審査委員	教授	渡邊 朋信	
審査委員	准教授	仲 一仁	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis: IPF) は、難治性で予後不良の肺疾患であり、その治療にはピルフェニドンやニンテダニブといった抗線維化薬が条件付きで推奨されているが、これらの薬剤では病勢の進行を完全に止めることはできない。また、消化管障害、皮膚障害、肝障害などの副作用も問題となることから、IPF には新たな治療法の開発が求められている。</p> <p>間葉系幹細胞 (mesenchymal stem/stromal cell: MSC) は、骨髄、脂肪組織、臍帯、末梢血、筋肉組織などの様々な体組織から分離可能な多能性細胞であり、免疫調節能と抗炎症作用を有している。体組織から分離された MSC を障害された臓器、組織に移植することによって、臓器機能が回復する事が複数の報告で示されており、肺線維症治療にも有効であることが報告されている。これらの報告では血清含有培地で培養した MSC (MSC cultured in serum-containing media: S-MSC) が用いられているが、血清の使用はレシピエントに有害な免疫反応や未知の病原体感染を引き起こす危険性がある。そのため、無血清培養 MSC (MSC cultured in serum-free media: SF-MSC) の臨床応用が望まれるが、SF-MSC の肺線維症に対する有効性は不明である。そこで、著者らはヒト骨髄由来 SF-MSC が肺線維症に有用かどうかについて検討を行った。</p> <p>S-MSC と SF-MSC の増殖能を比較したところ、SF-MSC の増殖能は、S-MSC と比較して有意に高かった。SF-MSC が MSC の形質を保持しているかどうかを調べるため、細胞表面タンパク質の発現をフローサイトメトリー解析で評価した。その結果、CD11b, CD19, CD34, CD45, HLA-DR は陰性で、CD44, CD73, CD90, CD105 は陽性であり、SF-MSC も International Society for Cellular Therapy の基準を満たした MSC である事を確認した。更に RNA sequence 解析を実施したところ、検出された 16,806 個の遺伝子のうち、SF-MSC と S-MSC との間で、2,417 個の発現変動遺伝子 (differential expressed gene: DEG) が同定された。パスウェイ解析では、SF-MSC において細胞周期経路に関連する DEG が高発現しており、SF-MSC の高い増殖能を示していた。また SF-MSC では、アポトーシス関連 DEG 発現が S-MSC に比べて低かった。</p> <p>次に、MSC をマウスに経尾静脈投与し、マウス肺に生着した MSC を評価した。マウス肺切片を抗ヒト核抗体で染色すると、マウス肺内に SF-MSC が生着していることが確認された。フローサイトメトリー分析では、マウス肺に生着した MSC の数は、SF-MSC (0.42% ± 0.02%) の方が S-MSC (0.28% ± 0.02%) よりも有意に多かった。また、肺に生着した SF-MSC は、時間経過とともに減少していくことが観察された。</p> <p>SF-MSC と S-MSC の治療効果を比較するため、マウスブレオマイシン肺線維症モデルに MSC</p>			

を經尾靜脈投与した. SF-MSC 投与群では, 肺のヒドロキシプロリン値が S-MSC 群よりも有意に低下し, 病理標本でも肺の線維化変化が少ないことが確認された. さらに, SF-MSC は肺線維症における気管支肺胞洗淨液 (Bronchoalveolar lavage fluid: BALF) 中の炎症細胞増加を有意に抑制し, 血清 TGF- $\beta$ 1 減少と BALF 中 IL-6 増加を抑制した. 次に, TGF- $\beta$ 1 と IL-6 は制御性 T 細胞 (regulatory T cell: Treg) の分化誘導に関するサイトカインであるため, マウス生体内の Treg を評価した. その結果, SF-MSC 投与群ではマウス血中および肺内 Treg が増加していた. 特異抗体を投与することで, この Treg の増加を枯渇させたところ, SF-MSC の抗線維化作用が消失した.

以上より, 本研究では, SF-MSC が Treg の誘導を促進することで, マウス BLM 肺線維症を抑制することが明らかにされた. また, SF-MSC の治療効果は, S-MSC と比較してさらに強固なものであることが示された. さらに, SF-MSC は細胞増殖能が高く, 血清使用の欠点を回避することが可能であることから, 今後の臨床応用の場において S-MSC と比較して優位性がある.

以上の結果から, 本論文は無血清培地で培養された MSC が肺線維症治療において有望な細胞源であることを示した報告である. 詳細な分子機序の解明や, ヒト臨床応用に向けての安全性評価などの課題は有するが, ヒト肺線維症への新たな治療戦略の可能性を提供した重要な研究と考える.

よって審査委員会委員全員は, 本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた.