

論文の内容の要旨

氏名：野 本 正 幸

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：ヒト羊膜上皮細胞を用いたⅡ型肺胞上皮細胞への分化誘導

肺胞壁はⅠ型肺胞上皮細胞とⅡ型肺胞上皮細胞で構成され、Ⅰ型肺胞上皮細胞はガス交換に、Ⅱ型肺胞上皮細胞は肺胞虚脱を防ぐサーファクタントの産生に参与している。Ⅱ型肺胞上皮細胞の機能不全は、間質性肺炎などの難治性呼吸器疾患を引き起こす。健康なⅡ型肺胞上皮細胞の移植によって治療できることが示唆されているが、健康なⅡ型肺胞上皮細胞の入手は限られているため、患者への治療の選択肢を提供することはできない。ヒト羊膜上皮細胞(hAECs)は胎盤幹細胞の一種であり、多能性幹細胞様の分化能を有するとともに、臨床応用上多くの利点を有している。本研究では、hAECsがⅡ型肺胞上皮細胞への分化能を示すことを目的としてⅡ型肺胞上皮細胞のマスターレギュレーター遺伝子である *NKX2-1* を導入するダイレクトリプログラミングを行った。レンチウイルスベクターを用いて *NKX2-1* を導入し2週間後、Ⅱ型肺胞上皮細胞特異的マーカー遺伝子であるサーファクタントタンパク質 C 遺伝子 (*SFTPC*) の発現上昇が RT-qPCR で確認された。加えて、ウエスタンブロッティングによりタンパク質を評価したところ、同様に発現の上昇が見られた。興味深いことに、外因性 *NKX2-1* 誘導は、内因性 *NKX2-1* の発現を誘導し、分化経路における自己活性化機構の存在を示唆した。その他のⅡ型肺胞上皮の性質を持っているかの評価を含め、広範な遺伝子の発現の変化を網羅的に確認するために RNA-sequencing (RNA-seq) によるトランスクリプトーム解析を行った。その結果、*NKX2-1* 誘導細胞では肺胞関連遺伝子の大部分が高発現していた。実際のヒトⅡ型肺胞上皮細胞と比較するとサーファクタント関連遺伝子セットで同様の発現を示した。Ⅱ型肺胞上皮細胞の機能を保持しうるかの評価のため、肺サーファクタントを含有するラメラ小体形成を機能的Ⅱ型肺胞上皮細胞の指標とした。肺サーファクタントの約90%は脂質で、ジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC) が主成分であることから、LysoTrackerRed で標識した小胞への GFP 標識ホスファチジルコリンの取り込みを確認し、作出した細胞はラメラ小体を有する機能的Ⅱ型肺胞上皮細胞であることが示唆された。これらの結果から本研究は、hAECs からⅡ型肺胞上皮細胞への分化の可能性を示した。