

学位授与番号：乙3097号

氏名：山田 哲史

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成26年11月12日

学位論文名：

Comparison of multipotency and molecular profile of MSCs between CKD and healthy rats.

（慢性腎不全モデルラットにおける間葉系幹細胞の多分化能と遺伝子発現に関する研究）

主論文名：

Comparison of multipotency and molecular profile of MSCs between CKD and healthy rats.

（慢性腎不全モデルラットにおける間葉系幹細胞の多分化能と遺伝子発現に関する研究）

学位審査委員長：教授 岡部正隆

学位審査委員：教授 馬目佳信 教授 佐々木敬

論 文 要 旨

(2部提出)

論文提出者名	山田 哲史	指導教授名：井田 博幸
<p data-bbox="240 383 481 421">主論文題名</p> <p data-bbox="395 441 1275 528">Comparison of multipotency and molecular profile of MSCs between CKD and healthy rats.</p> <p data-bbox="467 544 1189 631">(慢性腎不全モデルラットにおける間葉系幹細胞の多分化能と遺伝子発現に関する研究)</p> <p data-bbox="979 654 1409 689">Human Cell. 2014; 27(2):59-67.</p> <p data-bbox="228 703 1409 1111">【はじめに】小児の末期腎不全患者において、透析のタイミングや方法、移植腎のサイズ、ドナー不足、移植腎の慢性拒絶反応など問題は多い。今後、自己の細胞を用いた腎臓再生ができれば全ての問題を解決できる可能性がある。以前、私の所属研究室から間葉系幹細胞(Mesenchymal stem cells:MSCs)から機能のあるミニチュア腎を分化できることを報告した。しかし、長期間透析を受けている患者が自身のMSCsの使用を試みた際に、尿毒素の暴露の影響でその活性が落ちている可能性がある。そのため、慢性腎不全モデルラットと健常ラットの脂肪・骨髄由来の間葉系幹細胞を用いて、分化能と遺伝子発現について検討を行った。</p> <p data-bbox="228 1128 1409 1429">【対象と方法】11匹のウィスターラットを0.75%アデニン含有食を4週間与えた腎不全(chronic kidney disease:CKD)群と、通常食を与えた健常(control)群に分け、各々の脂肪(ASCs)と骨髄(BMSCs)からMSCsを分離し、MSCsの細胞表面マーカーをフローサイトメトリーで確認した。各々のMSCsの遺伝子発現をRT-PCRアレイを用いて評価した。また、脂肪細胞・骨芽細胞・軟骨細胞へ分化誘導し、組織学的評価・機能的アッセイを用いた評価を行った。</p> <p data-bbox="228 1447 1409 1854">【結果】CKD群とcontrol群を比べた際に、BMSCs・ASCs共にstemness marker, 分化誘導された脂肪細胞・骨芽細胞・軟骨細胞の形態、脂肪細胞のGPDH活性において有意な差は認められなかった。しかし、ASCsの遺伝子発現において、control群に比べCKD群ではTgfb3の発現が増加し、Bmp6, Gdf15, Mmp2, Vegfaの発現が低下していた。次にBMSCsとASCsを比べた際に、遺伝子発現では、BMSCsにおいてBglap・Bmp4・Igf1・Il10・Itgax・Pparg・Ptprc・Tnfの遺伝子発現が増加し、Abcb1a・Bmp6・Bglap・Casp3・Colla1・Erb2・Kdr・Mmp2・Runx2・Sox9・Vegfaの発現が低下していた。</p> <p data-bbox="228 1872 1409 2042">【結語】慢性腎不全患者において、尿毒素によるMSCsの遺伝子発現や分化能への影響は少ないと考える。しかし、さらに長期の尿毒素暴露での影響や、MSCsの由来が骨髄もしくは脂肪によって、腎臓再生へ強く影響を与える可能性があるとし唆された。</p>		

論文審査の結果の要旨

山田哲史氏の学位申請論文は、主論文1編からなり、主論文は「Comparison of multipotency and molecular profile of MSCs between CKD and healthy rats.」日本語で「慢性腎不全モデルラットと健康なラットにおける間葉系幹細胞の多分化能と遺伝子発現プロファイルの比較」という題名の英文論文で、*Human Cell*誌 (IF=1.737)に発表されております。このラットを用いた研究を通じて、山田氏は、慢性腎不全患者において、尿毒素による間葉性幹細胞の遺伝子発現や分化能への影響は少ないと考えられるが、さらに長期の尿毒素暴露での影響や、間葉性幹細胞が骨髄もしくは脂肪という由来の別によって、腎臓再生へ強く影響を与える可能性があることを述べております。

去る平成26年10月22日、馬目佳信教授、佐々木敬教授のご臨席のもと、公開学位審査委員会を開催し、山田哲史氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を行いました。

席上、

- ・ 生後10週のラットを使った理由はなにか？これは小児腎不全のモデルになるのか？
- ・ 4週間のアデニン食で慢性腎不全モデルとして相応しいのか？
- ・ なぜセルソーターをつかわなかったのか？
- ・ 尿毒症の影響を遺伝子レベルで調べないのか？
- ・ 幹細胞としての特徴を示す遺伝子の発現プロファイルを調べていないのはなぜか？
- ・ 実際に腎臓の形成に使用できるかはまだ調べていないのか？
- ・ 小児腎不全の原因が遺伝性疾患であれば、その患者の細胞を使っても腎臓再生には使えないのではないか？

など多くの質問がありました。山田氏は過去の報告などを引用しつつ、実際に腎臓再生に使用する場合の問題点なども踏まえて、各質問に的確に回答いたしました。

その後、馬目佳信教授、佐々木敬教授と慎重に審議した結果、本論文は、慢性腎不全患者に対する自己細胞を用いた腎臓再生治療の実現化を目指す上で、不可避の研究を報告したもので、学位申請論文として十分価値があるものと認めました。但し、提出されたthesisが山田氏の単著であることに対して、本文中に的確でない主語の表記が複数箇所あったこと、また不必要な図版が含まれ

ている点を指摘し、これらを修正するように山田氏に指示をいたしました。後日修正されたthesisが提出され、内容を確認したところ改善があったことから、これを受領し、学位申請論文として十分価値があるものと認めた次第です。