

学位授与番号：甲 1 0 2 2 号

氏 名：山中 修一郎

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 28 年 7 月 13 日

学位論文名：

Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells in Long-Term Dialysis Patients Display Downregulation of PCAF Expression and Poor Angiogenesis Activation

学位論文名（翻訳）：

長期透析患者における脂肪由来間葉系幹細胞の PCAF 発現低下および血管新生能低下

学位審査委員長：教授 大橋十也

学位審査委員：教授 嘉糠洋陸 教授 松浦知和

論文要旨

論文提出者名	山中 修一郎	指導教授名 横尾 隆
--------	--------	------------

主論文題名

Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in long-term dialysis patients display downregulation of PCAF expression and poor angiogenesis activation.

(長期透析患者における脂肪由来間葉系幹細胞の PCAF 発現低下および血管新生能低下)

Shuichiro Yamanaka, Shinya Yokote, Akifumi Yamada, Yuichi Katsuoka, Luna Izuhara, Yohta Shimada, Nobuo Omura, Hirotaka James Okano, Takao Ohki,

Takashi Yokoo. PLoS One, 2014 Jul 15; 9(7): e102311. doi:

10.1371/journal.pone.0102311.

【はじめに】私の所属する研究室では既にヒト間葉系幹細胞(MSCs)から機能を持った腎臓を再生することに成功した。しかし、今までの臓器再生研究の多くは健常者から得られた幹細胞を用いており、長期の疾患環境に暴露した幹細胞への影響は検討されておらず、実際に腎再生において問題なく応用できるかについては不明であった。そこで私は長期透析患者由来の MSCs(KD-MSCs)と非腎不全の健常者由来(HC-MSCs)を比較することで、組織幹細胞における長期尿毒症環境の影響について臓器再生の観点から比較解析を行った。

【対象と方法】透析患者 9 名(KD-MSCs)と非腎不全患者 6 名(HC-MSCs)から脂肪組織を採取し MSCs を樹立した。MSCs について表面マーカーの発現、脂肪・骨・軟骨への分化能、細胞増殖能、老化、リアルタイム PCR アレイを用い分化機構に特化した遺伝子発現を解析した。さらに 2 群間での MSCs における PCAF, HIF-1 α , VEGF の低酸素応答性評価および、血管新生能評価を行った。【結果】MSCs に特徴的な表面マーカーの発現は両群で差を認めなかった。脂肪・骨・軟骨への分化誘導においても組織学的に差はなかった。さらに脂肪分化について GPDH 活性、骨分化について ALP 活性を比較したが両群に差はなかった。細胞増殖能、細胞老化について両群で比較したところ有意差を認めなかった。リアルタイム PCR アレイでは KD-MSCs において PCAF, PIGS, BMP4 の有意な発現低下を認めた。さらに、KD-MSCs において低酸素曝露時における PCAF, HIF-1 α , VEGF の応答的発現増加を認めなかった。KD-MSCs は *in vivo* で血管新生能の低下を認めた。【結語】長期透析患者から樹立した MSCs は、複数の分化機構関連因子の低下と腎再生において重要な低酸素応答性および血管新生能が低下していた。透析患者由来の MSCs は腎再生応用に不適である可能性が示唆された。

学位審査の結果の要旨

山中修一郎氏の学位申請論文は主論文1編参考論文1編からなり、主論文のタイトルは「Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in long-term dialysis patients display downregulation of PCAF expression and poor angiogenesis activation.」、日本語では「長期透析患者における脂肪由来間葉系幹細胞のPCAF発現低下および血管新生能低下」と題され、2014年に*PLoS One*, 誌に発表された。同誌のインパクトファクターは2014年で3.234である。以下、審査委員会における審査結果を記載する。

平成28年3月28日、嘉糠洋陸、松浦知和両審査委員出席のもとに公開学位審査会を開催し、山中氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を実施した。試験では以下のような質問があった。

1. 細胞の品質となると脂肪細胞由来より骨髄細胞由来の間葉系幹細胞のほうが腎再生には適しているのではないか？
2. 間葉系幹細胞においてPCAFの発現のバラつきはなかったか？
3. 老化のマーカーであるSA- β galは腎不全患者と正常で差があるのに培養すると差がないのは何故か？
4. 良い細胞を選択するのにPCAFの発現を指標にで選択出来るか？
5. 間葉系幹細胞から腎の各種細胞に分化できるメカニズムなにか？
6. 人に応用した際にかかる費用は？
7. このアプローチで腎機能をすべてカバーするような再生腎が出来るのか？透析との併用も考えられるか？
8. 患者で透析群は糖尿病患者が多いが、PCAFの発現低下は高血糖のためとは言えないか？
9. 培養する前の脂肪細胞でのPCAFの発現はどうか？
10. PCAFの発現低下が血管新生を減弱させていると結論したが、PCAFをsiRNAなどで潰した場合も同様の事が観察されるのか？

上記質問に対して山中氏は適切に回答した。その後、嘉糠、松浦両教授と慎重に審議した結果、今回の研究は、将来の腎再生医療に対し、非常に重要な知見を与えるものであり、学位申請論文として十分にその価値が認められると結論した。

ただ、学位申請論文である、*PLoS One*, 誌において、図の不注意による掲載ミス、また、誤解を与えかねない図の掲載方法があったため、審査委員会として訂正を指示した。その訂正は、学位審査対象論文である*PLoS One*, 誌にerratumとして掲載された。この訂正は審査委員長が適切に訂正されていることを確認したことを申し添える。