

## 論文内容の要旨

氏名	北村 知嵩
Differentiation of embryonic stem cells into lung-like cells using lung-derived matrix sheets  (和訳)  肺由来脱細胞化マトリックスシートを用いた ES 細胞から肺細胞への分化誘導	

### 論文内容の要旨

肺は主にガス交換の役割を果たすと同時に、空気中のウイルス・細菌感染を防御する非常に重要な臓器であるが、再生能に乏しい。進行した COPD (chronic obstructive pulmonary disease)、IPF (idiopathic pulmonary fibrosis) といった難治性肺疾患も多く、これら病態は肺構造の破壊と不可逆的変化を伴うため、現代医療では肺移植が唯一の根治的治療となる。そのため近年、様々なアプローチにより肺再生医療に関する研究が行われるようになった。

これまで、種々の添加因子や遺伝子導入を用いることで ES (embryonic stem) 細胞や iPS (induced-pluripotent stem) 細胞などの幹細胞から肺各種細胞への分化誘導法が検討されている。しかしながら、脱細胞化組織に着目し、肺細胞への分化誘導を行った研究は極めて少ない。脱細胞化組織は、臓器由来の三次元構造と細胞外マトリックス (ECM; extracellular matrix) が保持されている。ECM は細胞の足場として支持する以外に、発生や形態形成、ホメオスタシスなどに関与していることが報告されており、肺由来 ECM (LM; lung derived-matrix) を用いることで、幹細胞から肺細胞への分化誘導が可能と考えられた。そこで本研究では、LM をシート状に加工した lung derived-matrix sheet (LMS) を用いて ES 細胞から肺細胞への分化誘導を行い、そのキャラクタリゼーションを行った。

成獣マウスより摘出した肺を SDS 処理後、tissue slicer を用いて LMS を調製した。未分化 ES 細胞 (恒常的に GFP を発現) から胚様体 (EB; embryoid body) を形成後、LMS 上に播種し、気層一液相培養を行った。培養 2 週間後に分化誘導した細胞を回収し、real time qRT-PCR 法による遺伝子発現解析および、組織切片を用いた免疫組織化学的解析を行った。

LMS 上で分化誘導を行った EB は、生着・増殖において厚さ 1000  $\mu\text{m}$  の LMS が最適であった。遺伝子発現解析では、LMS を用いた培養条件で *Nkx2.1* (肺前駆細胞)、*APQ5* (1 型肺胞上皮細胞)、*SFTPC* (2 型肺胞上皮細胞)、*CC10* (クラブ細胞) などの各種肺細胞分化関連マーカーの発現が有意に亢進した。さらに、組織切片を用いて免疫染色により解析した結果、GFP 陽性細胞が種々の肺関連細胞へと分化誘導したことを認めた。

これらの成績により、LMS は未分化幹細胞から肺各種細胞への分化を同時に誘導可能であることが明らかとなった。本研究の成果は、肺における ECM の新たな役割を示すと共に、今後の肺再生医療研究に大いに寄与するものと考えられる。