

| | | | |
|---------|-----------------------|---------|-------|
| 氏名 | 全 孝静 | | |
| 学位の種類 | 博士（医学） | | |
| 学位記番号 | 博甲第 8677号 | | |
| 学位授与年月 | 平成 30年 3月 23日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 | | |
| 審査研究科 | 人間総合科学研究科 | | |
| 学位論文題目 | 経胎盤移植系を用いた血液キメラマウスの作製 | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 博士（獣医学） | 杉山 文博 |
| 副査 | 筑波大学准教授 | 医学博士 | 竹内 薫 |
| 副査 | 筑波大学講師 | 博士（医学） | 横山 泰久 |
| 副査 | 筑波大学助教 | 博士（医学） | 鍋倉 宰 |

論文の内容の要旨

全孝静氏の博士学位論文は、経胎盤移植系を用いた血液キメラマウス作製を検討したものである。その要旨は以下の通りである。

（目的）

造血幹細胞移植マウスモデルを作製する場合、レシピエントマウスの免疫反応を抑え、ドナー細胞の生着率を高めるため、骨髄破壊的前処置を行う必要がある。しかし、このような処置は、免疫系細胞以外の正常な組織にもダメージを与えてしまい、ドナー細胞の生着率が低下する恐れがある。レシピエントとして広く使われている免疫不全マウスは、免疫系が完全に不活化していないため、僅かな免疫拒絶反応が見られるなどの問題点を残している。著者は、レシピエントへのダメージを最小限にし、より有効で安全な造血幹細胞移植法を検討し、既存の移植実験の限界を克服した新たな造血幹細胞移植マウスモデルの作製を目的としている。

（対象と方法）

経胎盤移植法は、発生初期に移植可能で、胎児へのダメージが少ない利点があるが、再現性が低いことや、技術的な制約があることからこの方法を用いた報告は少ない。著者は、初めに移植用ガラス針を独自に作製し、移植手法を改良することで、安定した経胎盤移植法の検討を行っている。次に、この移植法を用いて、造血幹細胞を欠損するマウス（内在性 *Runx1* 欠損 *GATA1* 陽性細胞 *Runx1* 発現遺伝子改変マウス）の胎児に、マウス（同種）、ラット（異種）の胎児肝臓細胞及びヒト（異種）の臍帯血由来造血幹細胞をドナーとして移植を行っている。

（結果）

胎齢 11.5 日胎児の胎盤に最適の深さにてガラス針を挿入することにより造血幹細胞を胎児へ効率的に移植できることを明らかにしている。胎齢 18.5 日胎仔を摘出し、胎仔肝臓の FACS 解析を行っている。同種胎児肝臓細胞移植の結果、80%以上がドナー由来の *CD45* 陽性細胞であり、コロニーアッセイではドナー由来の細胞がコロニー形成能を有することを確認している。さらに、生着したドナー細胞は

B細胞やT細胞、マクロファージへ分化していることをFACS解析で明らかにしている。次に、ラットの胎児肝臓細胞（異種）移植を行っている。その結果、ラット由来のCD45陽性細胞がレシピエントの体内に生着する個体を得ることを確認している。そして、ラット由来B細胞やT細胞、マクロファージおよび、赤血球も確認している。CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞の移植結果では、胎齢18.5日レシピエント胎児においてヒトCD45陽性細胞が検出できなかったが、野生型胎児をレシピエントとした結果では、4週齢マウスの末梢血において僅かながら陽性細胞を検出している。

（考察）

本研究では、造血幹細胞を欠損する遺伝子改変マウスの胎児に造血幹細胞移植を行い、移植個体に高いキメリズムが得られ、同種または異種由来のドナー細胞の生着率が良好であることが確認されている。特にラット由来の赤血球の顕著な発生が見られたことより、本経胎盤移植方法は従来の免疫不全マウスを用いた血液キメラマウス作製における赤血球出現率低迷の問題を克服する可能性を有することを明らかにしている。血液キメラマウス作製の確立は血液学や免疫学研究をはじめ広く基礎医学研究に貢献するものと思われる。しかしながら、本造血幹細胞欠損マウスは造血系以外の傷害により帝王切開後死亡することや未だドナーの血液・免疫系を完全に構築できないという大きな問題が残されている。著者が開発した方法をさらに改善させることにより、極めて有用なヒト化造血モデルマウス作製が可能になるとと思われる。

審査の結果の要旨

（批評）

本研究は、異種造血幹細胞移植モデルマウスを開発するため、造血幹細胞欠損レシピエントマウス胎児を用いた経胎盤系造血幹細胞移植による血液キメラマウス作製の有用性を検討したものである。

この課題に対して、本研究では経胎盤細胞造血幹細胞移植の最適方法を明らかにし、同種胎児肝臓細胞を用いて本移植方法により作製された胎齢18.5日胎児の血液キメリズム、移植胎児肝臓細胞のコロニー形成能及び血球細胞の分化を評価し、さらに異種ラット胎児肝臓細胞を用いて本移植方法により作製された胎齢18.5日胎児の血液キメリズムと血球細胞の分化を評価し、本方法が新規血液キメラマウス作製方法として極めて有用であることを明らかにしている。これら研究成果は今後ヒト化造血マウスの開発を行うために必要不可欠な知見であり、高く評価される。

平成30年1月5日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。