

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	岸 野 喜 一
主 論 文 題 名				
Derivation of Transgene-Free Human Induced Pluripotent Stem Cells from Human Peripheral T Cells in Defined Culture Conditions (既知組成培養条件下でのヒト末梢血T細胞からのiPS細胞樹立)				
(内容の要旨)				
<p>近年、人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell : iPS細胞) は再生医療における画期的で有用な移植細胞ソースとして期待されている。しかし、初期のiPS細胞樹立には、ウシ胎仔血清やマウス胎仔線維芽細胞 (mouse embryonic fibroblast : MEF) が用いられており、これらの使用は移植細胞ソースとしてのiPS細胞にフィーダー細胞や異種動物由来の未知の外的因子や病原体を混入させる可能性がある。このため再生医療への臨床応用にあたって、これらの潜在的なリスクを最小化した樹立法の確立が望まれている。また一方で、iPS細胞の由来となる多種あるドナー細胞の中で、そのサンプル採取の低侵襲性から末梢血T細胞が着目されている。T細胞由来iPS細胞 (T cell-derived iPS cell : TiPS細胞) はT細胞独自のT細胞受容体遺伝子再構成を有し、抗原特異性T細胞へと再度分化させることが可能性であるという点においても免疫療法への応用化の観点から着目されている。</p> <p>本研究の目的は、この問題を解決するべく、末梢血活性化T細胞からセンダイウイルスを用いてフィーダーフリー培養条件下でiPS細胞を樹立することである。採血により採取した末梢血T細胞を抗CD3抗体、インターロイキン2存在下で活性化し、センダイウイルスを用いて4つの転写因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) を遺伝子導入した。遺伝子導入に(-)鎖RNAウイルスであるセンダイウイルスを用いることでゲノムへの導入遺伝子挿入がなく、QT-PCR法により樹立したTiPS細胞内に導入因子の残存がないことを実際に確認した。TiPS細胞の樹立が可能なフィーダーフリー培養条件を同定する為に、複数の既知組成培地及び細胞外マトリックスの組み合わせを検討した結果、MEF培養条件下と比較し樹立効率は低下するもののmTeSR1とマトリゲルの組み合わせが最適であった。また、フィーダーフリー条件下で樹立されたTiPS細胞はES細胞と同様に未分化マーカーの発現を認め、さらに三胚葉由来組織への分化を多角的に確認出来た。また、T細胞は分化過程でT細胞受容体領域に遺伝子再構成が起きるが、実際に樹立したTiPS細胞でもT細胞受容体領域にモノクローナルな遺伝子再構成が認められ、T細胞由来であることが確認された。</p> <p>ヒト活性化末梢血T細胞にセンダイウイルスを用いてOct3/4, Sox2, Klf4, c-Mycの4因子を導入し、フィーダーフリー条件下にiPS細胞の樹立を行うことに成功した。これにより低侵襲で外的病原体混入リスクを軽減したより安全性の高いiPS細胞を短期間につくることが可能となった。移植医療などの再生医療の臨床応用化へと一歩繋がる成果であり、更なる今後の発展が期待される。</p>				