

別紙1-1

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 三浦 泰智

論 文 題 目

Transplantation of human iPSC-derived muscle stem cells in the diaphragm of  
Duchenne muscular dystrophy model mice

(デュシェンヌ型筋ジストロフィーモデルマウスの横隔膜におけるヒト iPS 細胞由来  
骨格筋幹細胞移植に関する検討)

論文審査担当者 名古屋大学教授

主 査 委員 勝野 雅央  
名古屋大学教授

委員 丸山 彰一  
名古屋大学教授

委員 小寺 泰弘  
名古屋大学教授

指導教授 江畑 智希

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

今回、デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)モデルマウスの横隔膜へ iPS 細胞由来骨格筋幹細胞を移植し、その生着と筋線維へ分化が可能かどうか検討した。まず、マウス由来のサテライト細胞を用いてマウスの横隔膜へ投与し、横隔膜への細胞移植が実現可能であることを示した。しかし、iPS 細胞由来骨格筋幹細胞は殆ど生着せず、移植効率を向上させるために移植方法の検討を加えた。マウスの横隔膜の筋収縮が、細胞と細胞液を移植箇所から流出させ、細胞生着を阻害している可能性を考え、細胞や細胞液の歩留まりを改善させるために、移植基剤を検討した。粘性が高く臨床応用されている、ゼラチン、アルギン酸、ヒアルロン酸を移植基剤として、脛骨筋、横隔膜への移植実験により、ゼラチンとヒアルロン酸で構成される混合ポリマーにより、移植が効率向上することを示した。この結果から、混合ポリマーを移植基剤とする移植プロトコールは横隔膜だけではなく、他の部位への局所投与による細胞移植研究においても有用な方法であることを示唆する。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 以前、マウスの大腿動脈にカニューレションしたカテーテルから iPS 細胞由来骨格筋幹細胞を投与し、細胞の生着を組織学的免疫染色により検討したが、移植細胞は骨格筋には認めず、血管壁内のみ認めた。この検討では、血管内に投与された骨格筋幹細胞は血管壁内こえて骨格筋に遊走し生着することを示せず、骨格筋幹細胞移植では局所投与が必要と考える。
2. マウスより分取したサテライト細胞の移植において、分取しそのまま移植した群と、培養・継代した後に移植した群では、培養・継代した群で移植効率が劣ることを示した研究がある。このことから、筋組織より分取した細胞と培養細胞では、細胞外マトリックスが異なる環境にあることが移植効率を低下させる要因のひとつとして想定される。
3. 今回の研究で得られた iPS 細胞由来骨格筋幹細胞は、レポーター遺伝子を導入した iPS 細胞から分化させ、フローサイトメトリーにより分取した。フローサイトメトリーで得られる骨格筋幹細胞は培養細胞の生細胞中で 20%程度と少なく、また、遺伝子導入していない iPS 細胞から骨格筋へ分化させたのち、骨格筋幹細胞を分取するための有効なマーカーはまだ確立していない。効率的な培養方法や、細胞の純化方法の確立が臨床応用に向けての課題と考える。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号	氏 名	三浦 泰智
試験担当者	主査 勝野 雅央	副査 <sub>1</sub> 丸山 彰一	
	副査 <sub>2</sub> 小寺 泰弘	指導教授 江畑 智希	
(試験の結果の要旨)			
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. 血管内投与により全身の骨格筋への移植の可能性について</li><li>2. iPS細胞由来骨格筋幹細胞の移植効率が低い点について</li><li>3. 臨床応用に向けての今後の課題</li></ol> <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、腫瘍外科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>			