

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 乙 第 号
------	---------

氏 名 島村 涌子

論 文 題 目

Mesenchymal stem cells exert renoprotection via extracellular vesicle-mediated modulation of M2 macrophages and spleen-kidney network  
(臓器連関・細胞外小胞の生体内動態からMSCの作用機構を解明)

論文審査担当者 名古屋大学教授

主 査 委員 榎本 篤  
名古屋大学教授

委員 和氣 弘明  
名古屋大学教授

委員 加留部 謙之輔  
名古屋大学教授

指導教授 丸山 彰一

## 論文審査の結果の要旨

今回、急速進行性糸球体腎炎のラットモデルに対しヒト脂肪由来間葉系幹細胞 (ASC) を投与し、ASC の腎炎に対する治療効果とその作用機序を確かめた。腎炎ラットに対しヒト ASC を投与したところ、顕著な治療効果を認め、抗炎症性の M2 マクロファージと制御性 T 細胞が増加した。Intravital imaging と flowcytometry により、生体内における ASC と EVs の動態を解明した。ASC 由来の Extra cellular vehicles (EVs) は主に M2 マクロファージに移行すること、ASC 由来の EVs は脾臓で PGE2 を介して M2 マクロファージの性質を増強させることが明らかになった。その後 M2 マクロファージは血流に入り、腎臓の Treg を増加させることが示唆された。この研究は、ASC、EVs、Prostaglandin E2、脾臓、損傷した腎臓の相互関係に着目し、ASCs の治療効果を明らかにした。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. EVs は miRN, mRNA, Lipids, Proteins, などを含んでいる。miR-146a、(COX)2-mRNA、mi-27a-3p などに代表される miRNA や、Tgf- $\beta$ 、PDL-1、galectin-1 を含むタンパク質などが EVs の免疫調整能に関与する可能性があることが報告されている。我々の ASC 由来の EVs についてもこれらの成分が機能していると想定される。EVs 中の miRNA の発現プロファイルについて調べるには、RT-qPCR や microarray、small RNA sequencing などを行い確認し、候補となる miRNA が挙げられれば knock out、knock down、over expression などで機能を確認する。また、間葉系幹細胞由来の EVs 中には数百～数千種タンパク質が含まれると報告されている。LC-MS/MS 等でタンパク質を同定し、免疫超性能を有すると考えられる因子について同様に gain of function、loss of function の系で確認することが必要と考えられる。
2. ヒト由来 ASC を投与したラットの M2 マクロファージにおいて、EVs 陽性のものは、flow cytometry と共焦点顕微鏡による観察の結果、腎臓で約 13.5%、脾臓で約 7.5%程度と推定される。
3. 本研究では ASC を DiD で染色することで ASC 由来の EVs を同色素で tracking することができた。DiD 陽性細胞は主に M2 マクロファージであり、脾臓中の白血球 (CD45 陽性細胞) が EVs を捕捉するところを Intravital Imaging で確認したが、EVs を捕捉した時点でその白血球がどの分画に属するかまでは確認できていない。これを確認するには各白血球分画の Sorting を行い、EVs と共培養し取り込みを確認するなど行うことが必要である。また、近年間葉系幹細胞由来の EVs が M1 マクロファージから M2 マクロファージへの polarization に関与するという報告もあり、この系についての検討も必要と考える。

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	※ 乙 第	号	氏 名	島村 涌子
試験担当者	主査 榎本 篤 副査 <sub>1</sub> 和氣 弘明 副査 <sub>2</sub> 加留部 謙之輔 指導教授 丸山 彰一			
(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. EVsの中身はどのようなものだと考えられているか？ それを調べるにはどのような実験を行うと良いと考えるか。</li><li>2. M2マクロファージのうちEVs陽性のマクロファージはどれくらいの割合か。</li><li>3. M2マクロファージがEVsを選択的にとっていくのか、あるいは血流中のEVsが偶々M2マクロファージに捉えられるのか。</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、腎臓内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>				

## 学力審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 乙 第	号	氏 名	島村 涌子
試験担当者	主査 榎本 篤 副査 <sub>1</sub> 和氣 弘明 副査 <sub>2</sub> 加留部 謙之輔 指導教授 丸山 彰一			
(学力審査の結果の要旨)				
<p>名古屋大学学位規程第10条第3項に基づく学力審査を実施した結果、大学院医学系研究科博士課程を修了したものと同等以上の学力を有するものと学位審査委員合議の上判定した。</p>				