

## A novel alveolar epithelial cell sheet fabricated under feeder-free conditions for potential use in pulmonary regenerative therapy

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-07-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 光星, 翔太 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.20780/00033283">https://doi.org/10.20780/00033283</a>

# 学位論文の要約

A novel alveolar epithelial cell sheet fabricated under feeder-free conditions for potential use in pulmonary regenerative therapy

(フィーダーフリーで作製した肺胞上皮細胞シートを用いた肺再生医療)

東京女子医科大学大学院  
外科系専攻呼吸器外科学分野

(指導：神崎正人教授) ㊞

光星 翔太

Regenerative Therapy に受理

## 【目的】

肺胞上皮細胞 (AEC) による再生医療は、臓器移植に代わる治療法として期待されている。AEC は通常マウス由来の 3T3 フィーダー細胞と共培養されるが、再生治療に異種組織を使用することは安全性の点で懸念がある。フィーダーフリーで AEC シートを作製すれば、このような安全性の問題を回避することができる。本研究では、肺再生医療へ応用するため、AEC をフィーダーフリーで培養し、AEC シートを作製、生体内に移植した後に AEC シートの生着を評価することを目的とした。

## 【対象および方法】

Outbred ラット/Green fluorescent protein(GFP)トランスジェニックラットの肺組織を細片化、エラスターゼで酵素処理し、AEC を単離した。単離した AEC は、低  $Ca^{2+}$  培地 (LCM) に Rho kinase (ROCK) inhibitor 添加の有無、組織培養皿に recombinant laminin-511 E8 fragment (rLN511E8) を用いたコーティングの有無によって、4 種類のフィーダーフリー条件で培養した。増殖細胞は、温度応答性培養皿で培養し、AEC シートとして回収した。GFP-AEC シートを、無胸腺ラットの左肺部分切除部位に移植し、7 日後に移植肺を摘出し、組織学的

に解析した。

### 【結 果】

AEC は、ROCK inhibitor を含む LCM を使い、rLN511E8 でコーティングした組織培養皿で培養すると、急速に増殖した。ROCK inhibitor と rLN511E8 を共に使用した場合、培養 7 日後に得られた AEC の細胞数は、他の 3 群に比べて有意に多かった。免疫組織化学的解析により、培養した AEC は Aquaporin-5、Surfactant protein (SP) -A、SP-C、SP-D、Axin-2 陽性であった。培養した AEC を温度応答性培養皿へ継代し、LCM+ROCK inhibitor で 7 日間、さらに  $Ca^{2+}$  を添加した LCM+ROCK inhibitor で 3 日間培養した後、AEC シートを回収した。 $Ca^{2+}$  添加後、細胞接着分子の E-cadherin 陽性を呈した。移植 7 日後、移植部位に 488nm の紫外線をあてると GFP 蛍光を認めた。GFP 陽性を示す部位に一致し、AQP-5、SP-A、SP-C、SP-D、Axin-2 陽性を呈し、AEC の特性を保持し、生着が確認された。

### 【考 察】

本研究では ROCK inhibitor と rLN511E8 を使用し、AEC の培養増殖が促進された。フィーダーフリーでの培養条件を確立し、再生医療に用いる際にも安全性が担保できる。 $Ca^{2+}$  は E-cadherin を介した細胞間接着には必須であり、 $Ca^{2+}$  を添加することで細胞間接着が強固となり、細胞シート作製が可能だったと考えられる。

### 【結 論】

フィーダーフリーで作製した AEC シートは、in vivo で肺へ移植した後も AEC の特性を保持していた。今後、AEC シート移植による更なる解析を行い、肺再生医療への応用を進める。