

# 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 井上裕太

主論文 1編

Direct conversion of fibroblasts into urothelial cells that may be recruited to regenerating mucosa of injured urinary bladder.  
Scientific Reports 9 : 13850, 2019

## 審査結果の要旨

尿路に機能障害や損傷をきたした場合、しばしば腸管を用いた再建術を行う必要がある。しかし腸管利用の尿路再建は代謝性アシドーシスや尿路結石形成、悪性腫瘍の発生などの合併症をきたすため、新たな尿路再建法が模索されてきた。ダイレクトコンバージョンは、ある細胞系譜から、多能性幹細胞のフェーズを介さずに直接、他の細胞系譜へと運命転換させる技術である。申請者は、種々の遺伝子をヒト皮膚線維芽細胞に導入し、ダイレクトコンバージョンによって尿路上皮細胞へと運命転換できるか検討した。

申請者は種々の遺伝子を挿入したレトロウイルスベクターをヒト皮膚線維芽細胞に導入し、real-time RT-PCR や位相差顕微鏡画像、免疫組織化学染色などを用いて尿路上皮細胞へ誘導されたか評価した。機能的評価として、細胞のバリア機能を transwell assay を用いて in vitro で評価した。また遺伝子導入後の細胞を、予め尿路上皮障害を惹起した免疫不全マウスの膀胱に注入し、in vivo 環境下で尿路上皮細胞への運命転換がなされるか評価した。

FOXA1、TP63、MYCL、KLF4 の 4 遺伝子を導入した線維芽細胞は、尿路上皮特異的マーカー (uropilin1b、2) や上皮マーカー (CDH1 や Keratin) を発現し、上皮細胞のコロニーを形成した。このコロニーは経時的に増大した。多能性幹細胞マーカーや他の上皮マーカーは発現せず、この運命転換はダイレクトコンバージョン(多能性幹細胞を介さない、他の細胞種への運命転換)によると確認した。誘導した尿路上皮細胞は特定の培地で選択的に増殖し、継代可能であった。継代した細胞は in vitro でバリア機能を有し、RNA-seq でも正常尿路上皮細胞と類似した遺伝子発現パターンを示した。遺伝子導入後 4 日目の細胞を、尿路上皮障害をきたした免疫不全マウスの膀胱内腔に注入したところ、膀胱内腔に生着し尿路上皮マーカーを発現した。一方、免疫不全マウスの皮下に移植し長期間観察したが、腫瘍化は認めなかった。

以上が本論文の要旨であるが、申請者はヒト線維芽細胞から尿路上皮細胞へのダイレクトコンバージョンに成功した。尿路上皮の再生につながる新たな技術として期待できる点で、医学上価値ある研究と認める。

令和 元年 12 月 19 日

審査委員 教授 橋本直哉 ㊟

審査委員 教授 田尻達郎 ㊟

審査委員 教授 中屋隆明 ㊟