

YIA-1 アレルギー研究領域における新しいツールとしてのヒト末梢血単球由来 iPS 細胞株作製の試み

平松 範子^{1,2}, 山本 直樹², 磯谷 澄都³, 近藤 征史³, 今泉 和良³

¹藤田保健衛生大学 大学院医学研究科

²藤田保健衛生大学 研究支援推進センター 再生医療支援推進施設

³藤田保健衛生大学 医学部 呼吸器内科学 I

【背景】喘息を含むアレルギー疾患は根治できず、薬剤や対症療法により制御できない病態もまだ多く存在する。演者らは、iPS 細胞由来免疫制御系細胞を用いたアレルギーに対する薬剤や現行療法による効果を補足・増強させる新規免疫細胞療法の確立を最終目標としている。本研究では、研究に応用できる新たなツールとして、これまで市販ベクターを用いた方法では作成が困難であったヒト末梢血単球由来 iPS 細胞の作出を試みた。末梢血単球は低侵襲で採取でき、DNA の不可逆的な修飾がないため、複数の抗原が原因となるアレルギー疾患を制御する免疫細胞に分化誘導するための iPS 細胞の由来細胞として適しているが、*in vitro* にてはほぼ増殖せず iPS 化は容易でなかった。

【方法】健常ボランティアのヒト末梢血 CD14 陽性の単球を FACS Vantage SE でソーティングし、既報のような Growth Factor を含まず、シンプルな血清含有 RPMI-1640 維持培地にて前培養した。前培養した単球に市販のセンダイウイルスベクターを導入後、on feeder で維持培養、その後 feeder free に移行した。形成されたコロニーをアルカリホスファターゼ(ALP)染色、リアルタイム PCR 法にて SOX2、NANOG、OCT3/4 遺伝子の発現解析、フローサイトメトリーと細胞免疫染色にて SOX2、NANOG、OCT3/4、SSEA-4、TRA-1-60 蛋白質の発現を分析した。また、分化能を確認するために胚葉体を形成させ、パラフィンセリブロック標本を作製し、β3-Tubulin、α-SMA、AFP の免疫染色をした。さらに、導入細胞を単球および樹状細胞に分化誘導し、フローサイトメトリーにて HLA-DR 蛋白質の発現を確認した。なお、分化誘導の際、一部の細胞に対してダニ蛋白質などの抗原を添加した。

【結果】培養単球は高い viability が維持できた。導入細胞は ALP 陽性、SOX2、NANOG、OCT3/4 遺伝子の発現が増加、SOX2、NANOG、OCT3/4、SSEA-4、TRA-1-60 蛋白質が発現し、胚葉体は β3-Tubulin、α-SMA、AFP 蛋白質が発現していた。分化誘導した細胞は、樹状細胞のような突起を伸ばす形態が観察され、HLA-DR 蛋白質を発現し、抗原の添加により HLA-DR を高発現する細胞が増加した。

【考察】単球を細胞活性を維持したまま培養できる浮遊培養法を確立し、単球由来 iPS 細胞の作出に成功した。今後は、抗原特異的な免疫制御系細胞（樹状細胞や制御性 T 細胞）への最適な分化誘導条件を検討し、疾患モデルマウスを用いた *in vivo* 免疫抑制実験などを行う。

A study of newly established human peripheral blood monocyte-derived iPS cell line used in allergy research

Noriko HIRAMATSU (Graduate School of Medicine, Fujita Health University)

<e-mail: norikoh@fujita-hu.ac.jp>