

学 位 論 文 要 旨

博士課程 ①・乙	第 11 号	氏 名	本勝 希実子
<p>[論文題名]</p> <p>Naive-like conversion enhances the difference in innate <i>in vitro</i> differentiation capacity between rabbit ES cells and iPS cells</p> <p>ナイーブ様変換はウサギ ES 細胞と iPS 細胞の <i>in vitro</i> での分化能の差を増大させる (Journal of Reproduction and Development, in press)</p> <p>[要 旨]</p> <p>誘導多能性幹(induced pluripotent stem: iPS)細胞の研究は、ヒト再生医療の応用に大きな期待が寄せられている。その際に、樹立したどの細胞がヒトへの移植に適しているのかを判断するシステムの確立が必須であり、実験動物での条件検討が有効である。ヒトから樹立される多能性幹細胞はプライム型と呼ばれ、マウスやラットから樹立されるナイーブ型とは性質が異なり、キメラ形成能や生殖細胞への分化能がないため、プライム型の多能性幹細胞は分化能に制限がある。ウサギから樹立される多能性幹(iPS/ embryonic stem :ES)細胞は、ヒトから樹立される多能性幹細胞と同じプライム型の性質を示すため、ウサギを用いたトランスレーショナルリサーチの構築を目指し、どのような細胞種・細胞操作が最も分化能に優れ、ヒト再生医療に貢献できるかを検討してきた。これまでに樹立したウサギ ES/iPS 細胞を様々な神経系細胞への分化誘導に供したところ、オリゴデンドロサイトへの分化誘導が最も ES 細胞と iPS 細胞の質的な差を明確にすることができた。さらに分化誘導能は ES 細胞が iPS 細胞に比べて 2 倍高く、ES 細胞より質の低い iPS 細胞をナイーブ様型に変換すると、ナイーブ様変換 iPS 細胞の質がプライム型 ES 細胞と同等程度にまで向上することを明らかにしている。</p> <p>そこで本研究では、プライム型の状態で iPS 細胞よりも分化能が優れている ES 細胞をナイーブ様変換した場合、ES 細胞の質がさらに向上するのかをオリゴデンドロサイトへ分化誘導することで比較検討した。多能性幹細胞においてサイレンシングのかかりにくい EF1α プロモーターで OCT3/4 を導入し過剰発現させ、ナイーブ培地で培養することでナイーブ様化への変換を試みた。その結果、ナイーブ様変換したウサギ ES 細胞は、ナイーブ型の形態的特徴であるドーム型のコロニーを生じ、FGF2 の非存在下で継代・維持することができた。また、このナイーブ様変換したウサギ ES 細胞を用いて RT-PCR を行ったところ、幹細胞マーカー遺伝子が発現しており、さらに三胚葉奇形腫を作製することができた。次に、新たに樹立したナイーブ様変換 ES 細胞の分化能を検討するために、神経系の細胞の一つであるオリゴデンドロサイトへの体外分化誘導を試みた。その結果、ナイーブ様変換 ES 細胞は、プライム型 ES 細胞より、オリゴデンドロサイトへの分化能が 3 倍向上し、さらにナイーブ</p>			

様変換 iPS 細胞よりも分化能が 3~7 倍向上することが明らかとなった。つまりナイーブ様変換することで、ES 細胞と iPS 細胞のオリゴデンドロサイトへの分化能の差を増大できることが明らかとなった。しかしながら、オリゴデンドロサイトへの分化誘導能が最も高いナイーブ様変換 ES 細胞をウサギ胚に注入しても、内細胞塊には寄与したが、キメラ個体は得られなかった。

以上の結果より、ナイーブ様変換し、オリゴデンドロサイトへ分化誘導することで、ES 細胞と iPS 細胞の質的な相違をキメラ形成能に依存することなく、より明確に顕在化できることが明らかとなった。本研究の成果は、将来、オリゴデンドロサイトの形成や機能異常に起因する様々な疾患の病態解明や薬理効果の評価に有効であると考えられる。

備考 論文要旨は、和文にあつては 2, 000 字程度、英文にあつては 1, 200 語程度とする。