

Title	Differentiation defective phenotypes revealed by large scale analyses of human pluripotent stem cells( Abstract_要旨 )
Author(s)	Ohnuki, Mari
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2014-03-24
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2433/188702">http://hdl.handle.net/2433/188702</a>
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	none

京都大学	博士 ( 医科学 )	氏名	大貫 菜里
論文題目	<b>Differentiation defective phenotypes revealed by large scale analyses of human pluripotent stem cells</b> (大規模解析により明らかとなった分化抵抗性をもつヒト多能性幹細胞)		
(論文内容の要旨) 生体を構成する様々な細胞へ分化できる多能性を維持しながら、 <i>in vitro</i> で無限に増殖させることができる多能性幹細胞は、種々の基礎生物学的研究や薬剤等の開発、そして再生医療への応用が大きく期待されている。多能性幹細胞には、初期胚から樹立される胚性幹 (Embryonic Stem, ES) 細胞と体細胞からリプログラミングを経て樹立される人工多能性幹 (induced Pluripotent Stem, iPS) 細胞があるが、両者が同じであるか異なるかについては、現在までに多数の論文報告があるものの、その結論は様々であった。 本研究では、まず遺伝子発現、メチル化 CpG の網羅的な解析により、同じ条件で培養されたヒト ES 細胞 10 株、ヒト iPS 細胞 49 株の比較をおこなった。その結果、さまざまな株間差の存在が明らかになったが、両者を明確に分けるような特定の因子は見出せなかった。また、ヒト ES 細胞 10 株、ヒト iPS 細胞 40 株から神経分化誘導を行ったところ、大半の iPS 細胞株は ES 細胞と同程度の良好な神経細胞への分化能を示した。しかし、約 10% の iPS 細胞株は神経分化誘導培養後も未分化細胞が依然として残存し、マウスの脳に移植すると奇形腫が形成された。未分化細胞の残存と移植後の腫瘍形成は安全な再生医療を目指す上で克服されるべき一つの課題である。そこで、分化抵抗性 iPS 細胞株を分化誘導前の未分化な状態において予測することができるかどうかを調べるため、分化良好株と抵抗性株の遺伝子発現およびメチル化 CpG の網羅的な比較解析を行った。その結果、分化抵抗性株において 13 の遺伝子発現上昇がみられた。これらの遺伝子の中には、内在性レトロウイルス由来のプロモーターである LTR7 の活性化によって転写量が増加したとみられる遺伝子が多く含まれていた。本研究により、未分化 ES/iPS 細胞における LTR7 の高活性化は、分化抵抗性株のマーカーとして医療用 iPS 細胞株の選別に有用である可能性が示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

現在、医療応用のための iPS 細胞備蓄計画が進行しているが、本論文では iPS 細胞の質の定量的評価を可能にするため、以下の研究を行った。

まず申請者らは、同じ条件で培養された ES 細胞 10 株、iPS 細胞 49 株の遺伝子発現や DNA メチル化状態の比較をおこなった。その結果、ES 細胞、iPS 細胞ともに株間でのばらつきが存在し、両者を明確に区別できるような単一の因子は見出せなかった。

次に申請者らは、分化能についての定量的評価を行った。ES 細胞 10 株、iPS 細胞 40 株から無血清凝集浮遊培養法 (SFEBq 法) による神経分化誘導を行ったところ、すべての ES 細胞株と大半の iPS 細胞株は良好な分化能を示した。しかし、7 株の iPS 細胞は神経分化誘導培養後も未分化細胞が残存し、マウスの脳に移植すると奇形腫が形成されることが明らかとなった。

分化抵抗性 iPS 細胞株を分化誘導前の未分化な状態において予測するため、申請者らは分化良好株と抵抗性株の遺伝子発現を比較した。その結果、分化抵抗性 iPS 細胞株において発現が上昇している 13 遺伝子を同定した。これらの遺伝子の多くは、内在性レトロウイルス由来のプロモーターである LTR7 の活性化によって転写量が増加したと考えられた。

以上の研究は分化抵抗性 iPS 細胞の存在と分子指標について解明し、多能性幹細胞を用いた再生医療の実現に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士 (医科学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 26 年 2 月 26 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降