

## 論文審査の要旨及び担当者

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	平 塚 健
論文審査担当者	主 査	内科学	伊 藤 裕	
	生理学	岡 野 栄 之	泌尿器科学	大 家 基 嗣
	分子生物学	塩 見 春 彦		
学力確認担当者：			審査委員長：岡野 栄之	
			試問日：平成31年 2月25日	
(論文審査の要旨)				
論文題名：Induction of human pluripotent stem cells into kidney tissues by synthetic mRNAs encoding transcription factors (転写因子をコードする修飾合成mRNAを用いた多能性幹細胞から腎組織への分化誘導)				
<p>転写因子 (Transcription factor: TF) を誘導可能なヒト胚性幹 (Embryonic Stem: ES) 細胞株から得られたデータの <i>in silico</i> 解析から、ヒトES細胞から腎前駆細胞、腎オルガノイドへの分化誘導を14日間で可能とする2つのTFセットを明らかにした。</p> <p>審査では、合成mRNAの構造、効果について問われた。合成mRNAは、T7 promoterと両端に5'及び3'UTR, poly A tailが付与されており、Warrenらの検討では12-18時間をピークとして36時間程度の効果持続が報告されていると回答された。次に、本研究のストラテジーについて問われた。腎臓は特異的なマーカーに乏しく当初はCadherin16という尿管管全般に発現する膜タンパクに注目してマスターTFを検索したが、糸球体podocyteが誘導できなかったため、その前駆細胞であり間葉系細胞であるNephron progenitor cell (NPC) を誘導し2段階で腎オルガノイドを誘導するに至ったと回答された。続いて、細胞純化の有無について問われた。1つ目のTFセットの導入では90%以上の細胞がNPCとなるため細胞純化は行わなかったが、2つ目のTFセットの導入効率が悪いこと今後の課題として各合成mRNAの量と時期の検討に加え、オルガノイドの自己組織化とTFの導入を組み合わせることで誘導効率を高める必要があると回答された。さらに、腎オルガノイドは各セグメントが生体内と同じ順で組織化されているかどうかを問われた。免疫染色による検討では、生体内と同様には組織化されておらず、脱細胞化腎や3Dバイオプリンターを含めた外骨格の開発が必要であると回答された。最後に、臨床応用への課題について問われた。線維芽細胞からのリプログラミング因子の再検討が必要であり、その後の <i>in vivo</i> での遺伝子治療のためのツールとしてはAdeno-associated virus (AAV) ベクターやナノ粒子を用いたRNAの導入が候補として挙がること、特に、近年合成 AAVであるAnc80がmyofibroblast陽性の間質に導入された報告があり有望であるが、2段階で高効率にRNAを導入する手法の検討が必要であると回答された。</p> <p>以上、本研究は、<i>in vivo</i> への応用に向けて、生体内の細胞への効率的な導入方法等、検討すべき課題は残されているものの、腎構成細胞分化のマスターTFを明らかにした点、また腎疾患モデリングの新たなプラットフォームとしての利用が期待できる点において有意義な研究であると評価された。</p>				