

## 主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第 号	氏 名	平 塚 健
<p>主 論 文 題 名</p> <p>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>			
<p>(内容の要旨)</p> <p>ヒト人工多能性幹 (Induced pluripotent stem: iPS) 細胞を用いた腎組織の作成は、腎の再生医療への応用、疾患モデリングから創薬への応用が期待されるが、iPS細胞からヒト腎組織の作成方法を確立する必要があった。これまでマウス及びヒト胚性幹 (Embryonic Stem: ES) 細胞・iPS細胞を用いて、腎細胞・組織への分化誘導法を研究してきた (Morizane et al., BBRC, 2009/Plos one, 2013, Yamaguchi et al., Sci Rep., 2016)。その中で、より簡便で効率良く腎組織を作成する方法として、転写因子の過剰発現を介したリプログラミングによる分化誘導方法を検討した。</p> <p>洪教授は、ヒトES細胞の遺伝子発現調節ネットワークの構造と動態を明らかにするため、単一の転写因子を自在に誘導できるヒトES細胞バンク (転写因子 (Transcription factor: TF) -inducible human ESバンク) を樹立した。500種以上の転写因子をそれぞれ過剰発現できる細胞株の樹立に成功し、RNA-sequencing法を用いて、各転写因子がどのように遺伝子発現を調節し、細胞分化に影響を与えるのかを解析してきた。さらに、従来のプラスミドやウイルスベクターを用いた遺伝子導入によるゲノム修飾という問題を解決するため、導入遺伝子が細胞のゲノムに取り込まれない修飾合成メッセンジャーRNA (Messenger RNA: mRNA) による細胞分化誘導技術を開発した。</p> <p>そこで、TF-inducible human ES細胞株から得られた各転写因子による遺伝子発現パターンを解析したデータを用いた<i>in silico</i>による遺伝子発現比較解析から、ヒトES細胞から腎前駆細胞、並びに腎オルガノイドへの分化誘導を14日間で可能とする転写因子セットを同定した。同定した4つの転写因子を合成mRNAの形でヒトES細胞に遺伝子導入することで、SIX2<sup>+</sup>SALL1<sup>+</sup>腎前駆細胞をわずか2日で92%と高効率に誘導することに成功した。さらに誘導した腎前駆細胞に別の4因子を2日間添加し3次元培養を行う事で、分化誘導開始後14日目には糸球体足細胞、近位・遠位尿細管細胞の特徴を有したネフロン様構造を有する腎オルガノイドの分化誘導に成功した。RNA-sequencing法にてヒト腎臓遺伝子発現プロファイルとの比較解析を行ったところ、腎オルガノイドは類似した遺伝子発現パターンを示し、ヒト腎臓と近い性質を持った組織が誘導できていることが示された。</p> <p>この方法で作成された腎前駆細胞並びに腎オルガノイドは、再生医療への応用が期待されるだけでなく、腎疾患モデリングの新たなプラットフォームとして利用でき、CKDの新たな治療法の開発に役立つと考えられる。</p>			