

論文審査の結果の要旨

氏名：橋 本 真

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：脱分化脂肪細胞からの iPS 細胞(induced pluripotent stem cell)の樹立

審査委員：(主査) 教授 石井敬基

(副査) 教授 相澤 信 教授 高山忠利

教授 仲沢弘明

提出論文はヒト脱分化脂肪細胞 (dedifferentiated fat cell : DFAT) から人工多能性幹細胞(induced pluripotent stem cells:iPS 細胞)を作製し,DFAT が iPS 細胞の細胞供給源となる可能性を検討している。

小児(2歳男児と3ヶ月男児)2例より採取した脂肪細胞から DFAT を作製し,センダイウイルスベクターを用いて山中4因子 (Oct3/4,Sox2,Klf4,c-Myc) を遺伝子導入し,DFAT 由来の iPS 細胞を作製した.コントロールとして,標準的に使用されるヒト皮膚繊維芽細胞(HDF),ヒト新生児包皮由来繊維芽細胞(BJ)を用いた。

遺伝子導入効率の検討では,山中4因子とともに GFP 遺伝子を導入し,フローサイトメーターを用いて検討した.2例から作製した DFAT は HDF,BJ と同等の高い導入効率を示した.遺伝子導入が高率であった1例(2歳男児から作製した DFAT) の iPS 細胞 (DFAT-1) を用いて,幹細胞マーカー発現,胚性幹細胞の存在,三胚葉系列組織分化能,iPS 細胞コロニー誘導効率を検討した. RT-PCR 法による幹細胞マーカー発現解析では,DFAT-1 は幹細胞マーカー25因子の発現を認めた.さらに,免疫組織学的手法により胚性幹細胞マーカーである Oct3/4,Nanog,SSEA-4,Tra-1-60 の発現を確認した. 三胚葉系列組織多分化能評価は免疫組織学的検討を行い,内胚葉マーカー (Sox17,AFP) ,中胚葉マーカー (α SMA,Desmin) ,外胚葉マーカー (β -III tubulin) が DFAT-1 に陽性であることを示した. iPS 細胞コロニー誘導効率定量的評価では、遺伝子導入15日から20日まで,DFAT-1 は HDF や BJ に比べ未分化胚性幹細胞(ALP 陽性)コロニー数が有意に高値であることを示した。

本研究は小児1症例のみの検討であり、今後、症例数を増やし,成人・高齢者の DFAT から作製した iPS 細胞においても同様な結果が得られるかなどの検討が必要であるが,DFAT から多分化能を有する iPS 細胞が樹立可能であり,標準的な細胞供給源である HDF に比べ iPS 細胞コロニー誘導効率が高いことを示した最初の報告である。

よって本論文は、博士（医学）の学位を授与されるに値するものと認める。

以 上

平成28年2月17日