

シャージャラル フセイン 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

Pancreatic differentiation of human iPS cells using a defined and completely xeno-free culture system

(ゼノフリー培養系を用いたヒト iPS 細胞からインスリン産生細胞への分化誘導法の確立)

インスリンを産生する膵臓のβ細胞をヒト iPS 細胞から誘導することは、1 型糖尿病の細胞治療に向けた有望な方策であると考えられている。しかし、現在までに報告されている分化誘導法は、ヒト以外の動物由来の因子を含むため、移植細胞の拒絶、免疫反応の惹起、病原体感染などの可能性があり、治療のための使用には適さない。そこで本研究では、動物由来の因子を含まない（ゼノフリー）インスリン産生細胞の誘導法確立を目的とした。

まず人工 scaffold 上でゼノフリー培地を使ってヒト iPS 細胞を維持できることを確認した。次いで発生段階を模倣した5段階にわけてインスリン産生細胞の誘導条件を検討した。内胚葉誘導（ステージ1）にはアクチビンと Wnt が、原腸誘導（ステージ2）には FGF10 と Shh 阻害剤が有効だった。PDX1 陽性の膵臓前駆細胞及び NGN3 陽性の膵内分泌前駆細胞の誘導（ステージ3、4）には、高濃度の NOGGIN (BMP 阻害因子) が重要であり、これによって肝臓や腸への分化は抑制された。最後のステップ（ステージ5）であるインスリン産生細胞誘導には、3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX: フォスフォジエステラーゼ阻害剤)、Exendin-4 (GLP-1 アナログ)、ニコチンアミドが有効であった。こうして誘導した細胞にはヒト以外の動物由来の成分は検出されず、β細胞に特徴的な遺伝子を多く発現していた。さらに高濃度のグルコース及びインスリン分泌刺激剤（カリウムチャンネル阻害剤やトルブタミドなど）に反応して C ペプチドを放出した。しかしグルコースによる C ペプチドの増加は最大で 2.8 倍であり、糖尿病モデルマウスへの移植効果も未検討である。よってインスリン産生能をもつβ細胞様の細胞をゼノフリー培養系によって誘導したと結論した。また他の iPS・ES 細胞株でも同様の傾向が確認された。

審査では、ゼノフリーの定義、誘導による分化促進と増殖による選択の区別、培養における BMP 産生細胞の同定の有無、インスリン産生細胞やその前段階の細胞の純化法、誘導したインスリン産生細胞が対応する生体内での時期、グルコース反応性の改善法、所属研究室で報告された VMAT2 阻害剤の効果、移植によるβ細胞への分化能及び耐糖能獲得の検定、治療に必要とされる細胞数、等について多くの質疑応答がなされ、申請者からは概ね適切な回答が得られた。

本研究は、ゼノフリー培養系を用いてヒト iPS 細胞からβ細胞様のインスリン産生細胞の分化誘導法を確立したものであり、1 型糖尿病の細胞治療に貢献する可能性がある。よって学位の授与に値すると判断した。

審査委員長 腎臓発生学担当教授

西中村 隆一