

## 樋口 裕一郎 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

マウス ES 細胞を用いた三胚葉細胞の分化と、新規膵臓細胞分化誘導系の確立  
(Differentiation of the mouse ES cells into three germ layers and establishment of novel pancreatic differentiation procedure)

### 要旨

胚性幹細胞 (ES 細胞) は初期胚に由来する多能性幹細胞で、細胞系譜の決定、可塑性等の機構について試験管内で解析できる有用なモデルとなる。申請者の所属する研究室では、中腎由来の細胞株 M15 を支持細胞として、マウス ES 細胞から内胚葉である膵臓系譜の細胞を誘導する系を確立している。申請者は、培養過程に加える液性因子を変えることで、ES 細胞から神経外胚葉、中胚葉をも誘導できることを示した。これらはそれぞれ神経細胞や筋、骨、脂肪細胞への分化能を有しており、かつ網羅的遺伝子発現解析でも整合性のある結果が得られた。この知見は、M15 細胞を用いた分化誘導系が三胚葉系譜の分化機構を解析するためのモデルとして有用であることを示唆している。次いで支持細胞を用いない誘導系の開発を行った。M15 細胞で発現するラミニン  $\alpha 5$  が分化誘導に重要であることを根拠に、ラミニン  $\alpha 5$  を過剰発現する細胞から産生された擬似基底膜上で ES 細胞を分化させた。その結果 Pdx1 陽性の膵臓前駆細胞が誘導され、一部にインスリン陽性細胞がみられた。さらに腎被膜下への移植によって膵島様の構造が形成された。また擬似基底膜上での分化誘導過程におけるノックダウンの実験により、インテグリン及びヘパラン硫酸プロテオグリカンの関与を証明した。この支持細胞を用いない新たな分化誘導系は、ES 細胞からの細胞系譜の運命決定機構の解析にさらに有用であると考えられた。

審査の過程においては、他の研究グループの開発した分化誘導系に対する優位性、ノックダウン実験の特異性、分化誘導系と *in vivo* での発生の類似性、網羅的遺伝子発現解析の方法論と意義、基底膜からのシグナル伝達と膵臓系譜以外への分化における役割、擬似基底膜の臨床応用に向けた問題点等について、様々な質疑応答がなされ、申請者から概ね適切な回答が得られた。

本研究は、支持細胞を用いた ES 細胞からの三胚葉の誘導系及び擬似基底膜を用いた膵臓細胞誘導系を確立したものであり、学術的価値のみならず将来的な再生医療の観点からも意義深いものである。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

樋口 裕一郎

## 審査結果

学位申請者名：樋口 裕一郎

専攻分野：幹細胞制御学

学位論文題名：

マウス ES 細胞を用いた三胚葉細胞の分化と、新規膵臓細胞分化誘導系の確立  
(Differentiation of the mouse ES cells into three germ layers and establishment of novel pancreatic differentiation procedure)

指導： 桑 昭苑 教授

判定結果：

可

不可

不可の場合：本学位論文名での再審査

可

不可

平成 22 年 2 月 8 日

審査委員長 腎臓発生学担当教授

審査委員 小児科学担当教授

審査委員 病態生化学担当教授

審査委員 幹細胞誘導学担当教授

西中下隆一  
遠藤 文夫  
山崎 和也  
江良 拓実