京都大学	博士（　医　学　）	氏　名	那須　輝
論文題目	Genetically Matched Human iPS Cells Reveal that Propensity for Cartilage and Bone Differentiation Differs with Clones, not Cell Type of Origin （同一ドナー由来の iPS 細胞の軟骨・骨分化傾向は、由来細胞よりもクローンにより左右される）		

（論文内容の要旨）

再生医療への応用のために iPS 細胞を作製する際の体細胞の選択に関しては、採取のしやすさや、リプログラミングの効率などを考慮することが重要であるが、それに加えて選択した体細胞の分化形質が作製された iPS 細胞の分化能へ影響を与える可能性という点も指摘されている。いくつかの研究では、iPS 細胞は起源となった体細胞の細胞系譜へ分化しやすいことが示されているが、一方でそれに対して否定的な報告も散見される。これらの研究の問題点は、異なるドナーに由来する細胞を用いた比較研究であるために、分化形質の相違だけでなく、その他の遺伝的背景の影響を除外できない点である。

そこで、この課題に対する回答を得るために同一ドナーに由来する異なる分化細胞を用いて iPS 細胞を作製し、その分化能の比較検討を行なった。iPS 細胞を作製する由来細胞としては、整形外科領域で臨床応用されている間葉系骨髄間質細胞（BMSC）と、一般的な iPS 細胞の作成に用いられている皮膚線維芽細胞（DF）を選択した。3 名のドナーよりそれぞれの細胞を採取し、レトロウィルスを用いて、4 因子（OCT3/4、SOX2、KLF4、及び cMYC）を導入し、iPS 細胞を作製した(BM-iPSC 及び DF-iPSC)。それぞれの iPS 細胞より、導入遺伝子のサイレンシング、in vivo でテラトーマ形成能、及び正常核型を指標としてクローンを選択し、それぞれのドナーで対となる細胞間での遺伝子発現及び DNA メチル化の網羅的解析を行い、骨及び軟骨への分化能を比較した。結果として、まず DNA メチル化に関しては由来細胞のメモリーは認めるものの、BMSC と DF を比較して 2 倍以上の発現差を認める遺伝子群に関しては、BM-iPSCs と DF-iPSCs の間で有意な DNA メチル化の差を認めなかった。BM-iPSCs 群と DF-iPSCs 群の間での遺伝子発現においても、網羅的な解析における有意な違いは認められなかった。骨及び軟骨への分化能に関しては、クローン間で相違が認められたが、その相違は細胞起源に由来するものではなく、ドナーの相違に由来するものであった。これらのことから、遺伝子発現、軟骨分化能及び骨分化能に関しては、由来細胞である DF と BMSC との差は、リプログラミングの過程で消失すると考えられた。今回作成した、同一ドナーからの由来細胞の異なる iPSCs は iPS 細胞間のクローン間の差異を理解していくための非常に有用な材料となると考えられる。

（論文審査の結果の要旨）

起源とした体細胞の種類が、樹立された iPS 細胞の分化能に、どのような影響を与えるのかについて正確に把握するためには、遺伝情報を統一するために、同一ドナーから樹立した細胞を比較する必要がある。本研究では、この課題に対する回答を得るために同一ドナーに由来する異なる分化細胞、間葉系骨髄間質細胞（BMSC）と皮膚線維芽細胞（DF）、を用いて iPS 細胞を作製し、その分化能の比較検討を行なった。3 名のドナーよりそれぞれの細胞を採取し、レトロウィルスを用いて、4 因子（OCT3/4、SOX2、KLF4、及び cMYC）を導入し、iPS 細胞を作製した(BM-iPSC 及び DF-iPSC)。それぞれのドナーで対となる細胞間での遺伝子発現及び DNA メチル化の網羅的解析を行い、骨及び軟骨への分化能を比較した。結果として、DNA メチル化に関しては、BM-iPSCs と DF-iPSCs の間で相違が認められ、由来細胞のメモリーが残存していることが示唆されたが、BMSC と DF を比較して 2 倍以上の発現差を認める遺伝子群に関しては、BM-iPSCs と DF-iPSCs の間で有意な DNA メチル化の差は認めなかった。遺伝子発現においても、両群間に有意な違いは認められなかった。骨及び軟骨への分化能に関しては、その相違は細胞起源間よりもクローン間の方が大きかった。

以上の研究は、iPS 細胞の分化能における由来細胞の影響に関する知見を深めるものであり、iPS 細胞作成のための体細胞の選択に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（　医学　）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成２６年６月３日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日　　年　　月　　日