

京都大学	博士 ( 医科学 )	氏名	木村 東
論文題目	<b>Small molecule AT7867 proliferates PDX1-expressing pancreatic progenitor cells derived from human pluripotent stem cells</b> (低分子化合物AT7867はヒト多能性幹細胞由来のPDX1陽性膵前駆細胞を増殖させる)		
(論文内容の要旨) <p>膵β細胞の補充療法は糖尿病に対する根治療法の一つであるが、移植用膵・膵島の絶対的な不足が問題となっている。このため安定した膵細胞の供給源としてヒト多能性幹細胞 (ES細胞およびiPS細胞) からの膵細胞・組織の作製研究が進められており、数多くの報告からヒトES/iPS細胞から膵β細胞様細胞をはじめとした膵細胞を作製できることが示されている。しかし、膵β細胞の分化機構が完全には解明されていないことなどの理由から、これまでの分化誘導方法には安定性や作製効率に問題があり、移植用の膵細胞の安定供給法の開発に向けて多くの改良が必要とされている。</p> <p>膵前駆細胞は発生過程において膵β細胞を含む膵臓を構成する全細胞種へ分化することが知られている。そこで、現在までに安定した分化誘導法が確立されている膵前駆細胞に着目し、ヒトiPS細胞 (585A1株) から分化させた膵前駆細胞の増殖を促進させる化合物を探索し、その化合物を用いた細胞供給法の開発および膵前駆細胞の増殖機構の解明を目指した。</p> <p>まず、ヒトiPS細胞由来膵前駆細胞を用いて、1,327種類の低分子化合物を網羅的に調べたところ、膵前駆細胞の数を増加させる効果が最も強い化合物としてAT7867を同定した。AT7867処理した細胞群では、細胞増殖の指標であるKi67陽性細胞の比率が6日間以上高い値で維持されていた。一方、細胞死の指標であるcleaved-caspase 3陽性細胞率に変化が見られなかったことから、細胞数の増加は細胞死の抑制によるものではないことが示唆された。また、AT7867は585A1株に加え、他のヒトiPS細胞株 (Ff-I01株) やヒトES細胞株 (KhES-3株) から分化した膵前駆細胞においても増殖を促進させた。</p> <p>次に、AT7867が膵細胞だけでなく他の様々な細胞種の増殖を促進する可能性を考慮し、未分化iPS細胞から膵前駆細胞までの分化過程における途中段階の細胞種 (胚体内胚葉細胞、原始腸管細胞) に対する効果を検証した。その結果、増殖促進の効果は胚体内胚葉細胞や原始腸管細胞においては認められなかった。また、ヒトiPS細胞から分化させた中胚葉由来の血管内皮細胞に対しても増殖促進効果は示さなかった。このため、AT7867の増殖促進の効果は膵前駆細胞に特異的であると考えられた。</p> <p>次に、増殖後の細胞が前駆細胞としての分化能を維持しているか否かを検証するために、AT7867処理によって増殖させた膵前駆細胞を、既報にある膵内分泌細胞誘導因子で刺激した。その結果、増殖前の膵前駆細胞に加え増殖後の細胞からも、インスリン産生を示唆するC-ペプチドを発現する膵β細胞様細胞が検出された。つまり、化合物処理によって増殖させた細胞においても、前駆細胞としての発生学的機能を保持していることが示唆された。</p> <p>本化合物はprotein kinase B (AKT) に対する構造情報に基づくドラッグデザインによ</p>			

り合成され、高いAKT阻害活性を示す。AKT阻害が膵前駆細胞の増殖機構を担うのか類似化合物による検証を行ったが、これら類似化合物はAT7867よりも高い阻害活性を示すにも関わらず膵前駆細胞の数には影響しなかった。このことから、AT7867の標的分子は別に存在すると考えられた。

以上、本研究では、ヒトES細胞やヒトiPS細胞から分化誘導した膵前駆細胞の増殖を促進する低分子化合物AT7867を同定した。膵臓の発生機構に関しては未解明な点が多く、本化合物の作用機序をさらに詳しく調べることで、膵臓の発生過程における増殖と分化の機序解明が進むものと期待される。また、本研究は化合物を用いて膵細胞を安定供給する方法の開発にもつながり、糖尿病に対する再生医療の実現に貢献し得る。

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、1型糖尿病に対する再生医療開発に向け、ヒト多能性幹細胞由来膵前駆細胞の増殖を促進する新規の低分子化合物を探索し、その化合物を用いた膵前駆細胞の増殖機構の解明および膵細胞供給方法の開発を目指した。まず、ヒトiPS細胞を既存の方法によりPDX1を発現する膵前駆細胞へと分化誘導し、これを用いてキナーゼ阻害薬ライブラリのスクリーニングを施行した。その結果、AKT/p70S6K阻害薬である低分子化合物AT7867を同定した。AT7867処理を行うことで、DNA損傷を伴わない、正常な細胞周期の活性化により膵前駆細胞の増殖が促進された。また、膵前駆細胞以外の細胞では増殖促進の効果が認められなかったことから、本化合物が細胞種特異的に作用する可能性が示唆された。さらに、前駆細胞としての分化能についても検証を行い、AT7867処理にて増殖した後の細胞においても膵β細胞様細胞へと分化することから、本化合物は膵前駆細胞の特性を維持したまま増殖を促進させることが示された。AT7867の標的分子候補であるAKTやp70S6Kに対する他の阻害薬では増殖促進の効果は認められなかったため、膵前駆細胞においてより高い特異性を有する新規の標的分子の存在が示唆された。

以上の研究は胎生期膵前駆細胞の増殖機構の解明に貢献し、糖尿病に対する細胞療法の実現に向けた膵細胞供給方法の開発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30年11月28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 日以降