京都大学	博士（　医　学　）	氏　名	長　田　翔　伍
論文題目	Self-renewal and Pluripotency Acquired through Somatic Reprogramming to Human Cancer Stem Cells (体細胞のガン幹細胞へのリプログラミング過程で獲得される自己複製能と多能性)		

（論文内容の要旨）

多能性幹細胞は、内・中・外胚葉細胞へ分化可能な多分化能と自己複製能を特徴とする細胞である。マウスの 3.5 日齢胚盤胞の内部細胞塊細胞に由来する胚性幹（ES: embryonic stem）細胞が広く知られている。その ES 細胞に類似する細胞として、特定の転写因子の強制発現による再プログラム化により体細胞から直接誘導される人工多能性幹（iPS: induced pluripotent stem）細胞がある。iPS 細胞誘導技術は、疾患メカニズムの解明や再生・移植医療への応用が期待されている。しかし、iPS 細胞誘導において約１％以下の体細胞のみが iPS 細胞へと再プログラム化されるという効率の低さが、iPS 細胞誘導の分子機構解明の妨げとなっている。一方、iPS 細胞誘導経路は、体細胞のガン化経路と共通点を有することが知られている。本研究は、体細胞の再プログラム化過程において、iPS 細胞以外にも異なった特性を有する幹細胞が出現してくるのではないかという発想のもとに研究を開始した。その結果、自己複製能を有し安定に培養維持できる人工ガン幹細胞様(iCS: induced cancer stem-like)の細胞株が樹立された。一次 iCS 細胞は iPS 細胞誘導過程において一過的に出現する人工上皮幹(iES: induced epithelial stem)細胞由来の胚様体を介した分化誘導により、二次 iCS 細胞は一次 iCS 細胞の累代移植により樹立された。iCS 細胞は iPS 細胞に似た多能性マーカー遺伝子の発現様式を示すが、*REX1* や *LIN28* の発現は見られなかった。一方で、*EMP1* や *PPARγ* といった体細胞マーカー遺伝子を発現していた。iES 細胞、iCS 細胞は、免疫不全マウスへの移植により、共に高頻度でテラトーマを形成した。二次 iCS 細胞は安定に培養維持が可能で、遺伝子発現様式は一次 iCS 細胞に類似していた。グローバルな遺伝子発現解析から、一次 iCS 細胞は iES 細胞に似ており、iPS 細胞や元の体細胞とは異なることが示された。さらに詳細に、Core 多能性関連因子群（Core モジュール）、Myc 関連因子群（Myc モジュール）、Polycomb 関連因子群（PRC モジュール）の発現を相対的に比較すると、iCS 細胞では Core モジュールと Myc モジュールが多能性細胞型、PRC モジュールが体細胞型の発現を示すことが明らかとなった。これらのことから、体細胞の再プログラム化過程において、まず Core モジュールと Myc モジュールによって自己複製能、多能性、腫瘍形成能を獲得し、その後 PRC モジュールが抑制されることで iPS 細胞分子ネットワークが確立することが推察された。以上の結果から、１）iPS 細胞誘導過程において、iPS 細胞以外に iES 細胞、iCS 細胞も誘導される、２）iES 細胞、iCS 細胞は体細胞と iPS 細胞の中間段階の遺伝子発現様式を示すことが明らかとなった。これら新たな知見は、iPS 細胞誘導の分子機構の解明、効率化、そして iPS 細胞の品質管理への貢献が期待される。

（論文審査の結果の要旨）

多能性幹細胞は自己複製能と多分化能を特徴とする細胞である。初期胚の胚盤胞の内部細胞塊細胞に由来する胚性幹（ES）細胞が知られている。その ES 細胞に類似する細胞として、特定の転写因子の強制発現による再プログラム化により体細胞から直接誘導される人工多能性幹（iPS）細胞がある。iPS 細胞誘導技術は、疾患メカニズムの解明や再生・移植医療への応用が期待されているが、誘導効率の低さから、分子機構は不明のままである。体細胞の iPS 細胞化機構は、ガン化機構と共通点を有すると考えられている。本研究では、体細胞の再プログラム化が、iPS 細胞以外の多能性幹細胞をも誘導することを明らかにする目的で、iPS 細胞誘導過程からの細胞株の樹立と特性解析を行った。

その結果、自己複製能とテラトーマ形成能を有し安定に培養維持できる人工ガン幹細胞様(iCS)の細胞株が樹立された。iCS 細胞は、iPS 細胞誘導過程において一過的に出現する人工上皮幹(iES)細胞の分化を介し樹立され、ガン幹細胞の特徴である累代移植が可能であった。遺伝子発現解析から、iCS 細胞は iPS 細胞と体細胞の中間的特性をもつことが明らかになった。さらに全体的な遺伝子発現プロファイルから、iPS 細胞誘導過程において、*NANOG* や *TDGF1* といった Core 多能性関連遺伝子と Myc 関連遺伝子の活性化によって自己複製能と多分化能を獲得し、その後、*NR2F2* などの Polycomb 関連遺伝子が抑制されることで iPS 細胞分子ネットワークが確立することが示唆された。

以上の結果は、体細胞の再プログラム化過程において、iPS 細胞化前に自己複製能と多分化能を獲得し、iES 細胞や iCS 細胞といった体細胞と iPS 細胞の中間段階にある細胞が出現することを示している。これら新たな知見は、iPS 細胞誘導の分子機構の解明、効率化、そして iPS 細胞の品質管理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２４年１２月２５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