

(続紙 1)

京都大学	博 士（理 学）	氏名	濱寄 裕介
論文題目	類人猿iPS細胞の樹立と肢芽中胚葉細胞の誘導		
(論文内容の要旨)			
ヒト上科に属するヒトや類人猿は、直立二足歩行や懸垂運動への適応として特異な四肢プロポーションを示す。霊長類における四肢プロポーションは各種の運動様式を反映し、進化史の復元においても指標として用いられる重要な形質である。しかし、ヒトや各種類人猿に固有の四肢プロポーションがどのようなゲノム基盤の改変を経て進化してきたのかはほとんど明らかになっていない。種固有の四肢プロポーションは個体発生過程を通じて形成されるため、その理解には四肢発生過程を分子細胞レベルで精査する必要があるが、ヒトや類人猿の胚を直接研究に用いることへの制約が大きな障害となっている。そこで本研究では、各種類人猿のiPS細胞を樹立し、そこから四肢骨格の起源である肢芽中胚葉細胞を誘導する分化誘導系を構築することで、試験管内でヒトや類人猿の四肢発生過程の解析を実現する実験基盤の確立を目指した。 まず、第二章では類人猿iPS細胞リソースの整備を目的として、ヒト上科の中で唯一iPS細胞が樹立されていなかったテナガザル類を対象に、iPS細胞の作製と分子特性の解析を行った。テナガザル類の皮膚から培養した線維芽細胞にヒト初期化因子を導入することで、シロテナガザル1個体およびフクロテナガザル2個体から計5株のiPS細胞を樹立することに成功した。樹立したテナガザルiPS細胞はいずれも多能性マーカーの発現を示し、三胚葉系譜への分化能と正常核型を有していた。さらに、ヒトや大型類人猿、マカク類のiPS細胞との比較トランスクリプトーム解析により、テナガザルiPS細胞に特徴的な発現特性を見出した。 第三章では大型類人猿のボノボ2個体から採取された末梢血単核球に対してヒト初期化因子を導入することで、9株の遺伝子挿入のないボノボiPS細胞を初めて樹立した。これらのiPS細胞も多能性マーカー発現、三胚葉系譜への分化能、正常核型を有していた。 第四章では、ヒトと類人猿のiPS細胞を用いて、複数の液性因子による段階的な処理条件を検討することで、PRRX1陽性の肢芽中胚葉細胞を誘導する分化誘導条件を確立した。さらに、誘導過程において分化細胞の位置情報を制御することで、下肢特異的遺伝子群を発現する肢芽中胚葉細胞を誘導することに成功した。 以上の結果から、これまで樹立報告のなかったテナガザルiPS細胞と遺伝子挿入のないボノボiPS細胞を新たに樹立することで、既存のiPS細胞リソースと合わせてヒト上科の全系統において遺伝子挿入のないiPS細胞基盤が利用可能となった。さらに、ヒトや類人猿iPS細胞に適用可能な肢芽中胚葉細胞の分化誘導系を確立することで、ヒト上科の四肢発生過程の解析と種間比較を初めて実現する実験基盤を開発した。			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、ヒトや各種類人猿に固有の四肢プロポーシンのゲノム基盤の解明を目指して、iPS細胞の樹立と分化誘導の二段階の技術開発を行っている。種固有の四肢プロポーシンは遺伝的な基盤に基づいた個体発生過程を通じて形成されるため、その理解には四肢発生過程を分子細胞レベルで精査する必要がある。しかし、ヒトや類人猿の胚を直接研究に用いることは困難であるため、新たな技術が求められていた。そこで本研究では、「ヒト上科全系統を網羅したiPS細胞リソースの整備」と「上肢/下肢の位置情報を備えた四肢骨格の起源である肢芽中胚葉細胞の分化誘導法の開発」を目指した。この方法は、試験管内でヒトや類人猿の四肢発生過程の解析を実現する実験基盤として、ユニークなアプローチであると評価できる。

第二章では、ヒト上科の中で唯一iPS細胞が樹立されていなかったテナガザル類を対象に、iPS細胞の作製と分子特性の解析を行った。テナガザル類の皮膚から培養した線維芽細胞にヒト初期化因子を導入することで、シロテナガザル1個体およびフクロテナガザル2個体から計5株のiPS細胞を樹立することに成功した。樹立したテナガザルiPS細胞はいずれも多能性マーカーの発現を示し、三胚葉系譜への分化能と正常核型を有していたことから、当初の目的である肢芽中胚葉への分化誘導も可能であると判断された。

第三章では大型類人猿のボノボ2個体から採取された末梢血単核球に対して、遺伝子挿入を行わないウイルスベクターを用いてヒト初期化因子を導入することで、9株の遺伝子挿入のないボノボiPS細胞を初めて樹立した。これらのiPS細胞も多能性マーカー発現、三胚葉系譜への分化能、正常核型を有していたため、肢芽中胚葉への分化誘導も可能であると判断された。

第四章では、ヒトと類人猿、特にテナガザルのiPS細胞を用いて、複数の液性因子による段階的な処理条件を検討することで、PRRX1陽性の肢芽中胚葉細胞を誘導する分化誘導条件を確立した。さらに、誘導過程のシグナル因子の最適化により、下肢特異的遺伝子群を発現する肢芽中胚葉細胞を誘導することに成功した。上肢特異的な遺伝子群を発現する細胞を誘導することにはまだ至っていないが、同様の方法を用いて誘導に成功する可能性を感じさせるものであった。

第五章の総合討論では、「ヒト上科全系統を網羅した iPS 細胞リソースの整備」の結果、期待される今後の展開について考察している。さらに、「下肢の位置情報を備えた四肢骨格の起源である肢芽中胚葉細胞の分化誘導法の開発」により、四肢発生過程の解析と種間比較を初めて実現する実験基盤を開発したことは高く評価できる。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、令和8年1月19日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行い、その結果をもって令和8年1月22日に霊長類学・野生動物系教員会議で合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降