

学位授与記録簿（博士）

バイオサイエンス研究科

氏名	原口 大生
学位の種類	博士（バイオサイエンス）
授与年月日	2022年（令和4年）9月22日
学位授与の要件	本学学位規程第18条第1項該当者（学位規則第4条第1項）
学位論文の題名	全能性細胞特異的遺伝子を用いた iPS 細胞の作製
審査委員 主査	中村 肇伸 教授
副査	伊藤 正恵 教授
副査	齊藤 修 教授

論文内容要旨

iPS（induced Pluripotent Stem）細胞は、着床前胚から樹立された ES（Embryonic Stem）細胞と同等の分化能を有することから再生医療への応用が期待されている。しかし、最近の研究から体細胞核移植胚から樹立された核移植 ES 細胞は、iPS 細胞より ES 細胞に近いメチル化状態や遺伝子発現を示すことが明らかにされている。これらのことから、卵子に含まれる多数の因子でリプログラミングした iPS 細胞の方が、4 個の転写因子（Oct3/4, Klf4, Sox2, c-Myc: OKSM）でリプログラミングした iPS 細胞よりも品質が高くなると考えられている。

本研究では、当研究室において同定・解析を行っている全能性を有する初期の着床前胚に特異的に発現する遺伝子群（全能性細胞特異的遺伝子）を用いて、iPS 細胞の質を改善することを目的とした。これらの遺伝子は、ES 細胞や iPS 細胞では発現していないことから、iPS 細胞の誘導過程で機能する可能性が高いと考えられる。そこで、OKSM に加えて全能性細胞特異的遺伝子を iPS 細胞が誘導される初期段階に一過的に発現させた場合と継続的に発現させた場合における iPS 細胞の樹立効率を検討した。その結果、全能性細胞特異的遺伝子の中で Pramef12 はリプログラミング初期に一過的に発現させた場合においてのみ、iPS 細胞の誘導効率が上昇することが明らかとなった。また、免疫染色や遺伝子発現解析の結果か

ら、Pramef12 をリプログラミング初期に一過的に発現させた場合においてのみ、分化能が高い多能性幹細胞の指標となる Nanog、Dlk1、および Gtl2 の発現が顕著に増加することが明らかとなった。これまでの研究から、OKSM に加えて Zic3 と Esrrb を導入することにより、エネルギー代謝経路の変換が促進され、iPS 細胞の樹立効率と品質が向上することが知られている。そこで、iPS 細胞誘導時に OKSM に加えて Pramef12 をリプログラミング初期に一過的に発現させ、Zic3 と Esrrb の発現を経時的に確認した。その結果、Pramef12 をリプログラミング初期に一過的に発現させることにより、Zic3 の発現が早まることが明らかとなった。また、Esrrb については、発現は早期化しなかったが、発現量が通常の iPS 細胞よりも上昇していた。これらのことから iPS 細胞誘導時に、OKSM に加えて Pramef12 を初期段階に一過的に発現させることにより、エネルギー代謝経路の変換を促進し、その結果として、高品質な iPS 細胞を高効率で誘導できる可能性が示唆された。今後、他の全能性細胞特異的遺伝子を用いて作製した iPS 細胞の質について検討する予定である。

論文審査結果要旨

本論文では、iPS 細胞の質を改善することを目的として、従来の iPS 細胞の誘導に用いられる 4 因子に加えて全能性細胞で特異的に発現する遺伝子を用いて iPS 細胞を作製した。その結果、全能性細胞特異的遺伝子の 1 つである Pramef12 を iPS 細胞の誘導初期にのみ発現させた場合に、誘導効率が上昇するとともに、分化能が高い naïve 型の iPS 細胞が誘導できることを明らかにした。また、Pramef12 を発現させることにより、エネルギー代謝経路の変換が促進され、その結果として iPS 細胞の樹立効率と分化能が向上する可能性を示唆した。

本研究は、新たな高品質 iPS 細胞の樹立方法を開発しただけではなく、その分子機構についても解明したことが評価できる。また、研究の戦略は適切であり、論文も論理的に構成されており、質の高い論文であるといえる。また、本論文は査読付きの国際学術雑誌に発表されている。論文審査における口頭発表も他分野の者にも理解できるように工夫されており、質疑応答では、この分野における豊富な知識量と論理的思考能力の高さを確認することができた。以上のことから、本論文が長浜バイオ大学の博士(バイサイエンス)の学位論文として相応しいものと判断した。