

## 論文審査の結果の要旨

氏名 田中 杏奈

本論文は5つの章からなる。第1章の Introduction、第2章の Materials and Methods に続き、第3章と第4章では研究成果とその考察、そして第5章で結論が記されている。

申請者の研究室では、糖尿病の新たな治療法開発を目指してヒト iPS 細胞から膵島を作製している。本論文では、ヒト iPS 細胞から分化誘導した膵内分泌前駆細胞の増幅法と、さらに増幅した細胞を機能的な膵島へと分化誘導する方法が示された。

これまでに、胎児期の膵発生を模倣した多段階分化誘導法を用いることで、ヒト iPS 細胞から膵島を誘導する方法は多数報告されている。しかしながら、糖尿病患者への移植に必要な大量の膵島細胞の調製にかかる多額な費用や品質の安定性が課題となっている。そこで本論文では、膵島の前分化段階である膵内分泌前駆細胞を増幅し、機能的な膵島を大量に作製する方法を開発することで、この課題の解決に取り組んだ。

膵内分泌前駆細胞は、内分泌前駆細胞のマスター遺伝子 NGN3 の発現が必須である。一方、NGN3 の発現は細胞増殖を抑制することが知られており、本論文の膵内分泌前駆細胞においても増幅は困難であった。そこで、この細胞にレンチウイルスベクターを用いて複数種の細胞増殖関連遺伝子を導入し、その有効性を検討した。その結果、SV40LT を導入することによって、安定的かつ長期の細胞増殖が可能であった。しかしながら、この増殖シグナルによって、NGN3 をはじめとした膵内分泌前駆細胞マーカー遺伝子の発現は顕著に減少した。そこで、細胞増殖後に Cre/loxP システムを用いて SV40LT を除去したところ、細胞増殖は停止し、10日間の培養後には膵内分泌前駆細胞マーカー遺伝子の発現が回復することが示された。最後に、この NGN3 の発現が回復した増幅細胞から膵島へ分化誘導した結果、グルコース濃度応答性インスリン分泌能を保持する機能的な膵島へと分化することが示された。一方、SV40LT 除去直後に膵島への分化誘導を行った場合には、インスリン分泌量が顕著に低かったことから、NGN3 発現の回復が機能的な膵島への分化条件であることが明らかとなった。

このように申請者は、膵内分泌前駆細胞の増幅によって膵島の大量培養を可能とする新規手法の開発により、iPS 細胞由来膵島の1型糖尿病の臨床応用に向けた基盤を構築した。また、本研究における細胞生物学的解析は膵発生の理解にも大いに寄与する。

なお本論文は、渡邊亜美氏、中野泰博氏、松本征仁氏、岡崎康司氏および宮島篤氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験計画を立案して実施し、結果の分析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。