

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---


氏 名 程 钊


論 文 題 目


Establishment of induced pluripotent stem cells
from aged mice using bone marrow-derived myeloid cells


(老化マウス由来骨髄ミエロイド細胞から iPSCs の樹立)

論文審査担当者

主 査 員 高橋 雅英 
名古屋大学教授

委 員 長谷川 好規 
名古屋大学教授

委 員 上田 実 
名古屋大学教授

指導教授 磯部 健一 
名古屋大学教授

論文審査の結果の要旨

老化によって発生する様々な難治性疾患の治療を目指してマウスをモデルとして iPS 細胞の作製を行った。若いマウスあるいは胎児の皮膚の細胞あるいは骨髄細胞と、高齢マウスの皮膚、骨髄細胞より iPS 作製を試みたところ、高齢マウスの皮膚からの iPS 細胞作製が困難であったため、骨髄細胞から iPS 細胞を作製することにした。2ヶ月齢の C57BL/6 マウスの雄と、24ヶ月齢の C57BL/6 の骨髄細胞を採取し、GM-CSF で短期培養し、そこに山中4因子を加え iPS 細胞の作製効率を比較したところ若齢マウスにくらべ高齢マウスは iPS 細胞の作製率が低かった。

次に、GFP マーカーを持つ C57BL/6 マウス 21ヶ月齢の骨髄細胞を GM-CSF で培養し山中4因子を加え iPS 細胞を作製した。2クローンが得られ、そのうちひとつのクローンを解析した。高齢マウスから得られた iPS 細胞は多能性マーカーを発現し、細胞凝集法により *in vitro* で3胚葉に分化した。同系マウスである、C57BL/6 マウス背部にこの iPS を移植すると約1ヶ月で十分な大きさの奇形腫が現れた。奇形腫の組織を調べたところ3胚葉由来の組織が現れていた。高齢マウス iPS 細胞 MEFiPS 細胞をマクロファージに分化させるために OP9 細胞上で培養し血液幹細胞が現れた所で GM-CSF 培地に変更し培養を続けると両者からマクロファージ様細胞が得られた。この細胞のマーカーを FACS で検索したところ、マクロファージマーカーを持っていることが明らかになった。

更に、Chip アッセイでヒストンのメチル化を検索したところ、老化マウスにより得られた iPS 細胞では多能性マーカー遺伝子のヒストンメチル化が低下していた。マクロファージマーカーのヒストンメチル化は高レベルであった。分化させたマクロファージのマーカー遺伝子のヒストンメチル化は低下していた。このことから、老化マウスより得られた iPS 細胞はクロマチンレベルでも若返ったと思われる。

この iPS 細胞は老化関連疾患の再生医療のモデルマウスになると考えられる。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。