

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 落合 啓史

論 文 題 目

BMP4 and FGF strongly induce differentiation of mouse ES cells into oral ectoderm

(BMP4とFGFはマウス胚性幹細胞における口腔外胚葉への分化誘導の安定化に寄与する)

論文審査担当者

主 査


名古屋大学教授

委員

押 田 牙 治 

名古屋大学教授

委員

若 林 俊 彦 

名古屋大学教授

委員

室 原 豊 明 

名古屋大学教授

指導教授

有 馬 寛 

論文審査の結果の要旨





今回、継代培地に含まれる胎児ウシ血清 (FBS) やノックアウト血清代替物 (KSR) といった動物由来成分のロット差に影響を受けない、マウス胎生幹 (ES) 細胞における口腔外胚葉への安定した分化誘導方法を確立した。

本研究に対し、以下の点を議論した。

- 1 多能性幹細胞を特定の臓器に分化誘導する検討は発生学を基にして行っている。マウス胎児発生原腸胚期では、BMP4 は外胚葉の神経上皮への分化誘導を抑制し、非神経上皮への分化誘導を促進する。また、BMP4 ノックアウトマウスでは口腔外胚葉 (非神経上皮由来) の菲薄化が観察される。今回の検討において、既報の分化誘導方法では菲薄した上皮の層が確認された。この形態が BMP4 ノックアウトマウスの菲薄した口腔外胚葉に類似している点から、BMP4 の発現が不十分である可能性が示唆された。そこで BMP4 を付加したところ、口腔外胚葉が誘導されることが確認された。
- 2 発生学的には、口腔外胚葉は下垂体前葉原基や歯胚原基、口腔上皮、鼻腔上皮へ分化する。今回の検討では、マウス ES 細胞から分化した口腔外胚葉様の組織が、下垂体前葉原基や歯胚原基に分化することを確認することにより、口腔外胚葉としての特性を持つことを裏付けている。発生学的には、下垂体前葉原基はパウチ様構造をとり *Lim3* という特異的な転写因子を発現するが、本検討ではこれらの性質をもつことが示されている。さらに、下垂体前葉原基細胞から分化する ACTH 産生細胞や、プロラクチン産生細胞や成長ホルモン産生細胞、甲状腺ホルモン刺激ホルモン産生細胞に分化しうる *Pit1* 陽性細胞に分化することも確認されている。また、口腔外胚葉様の組織はより高濃度の BMP4 を付加することで歯胚原基 (*Dlx2* 陽性の歯原上皮細胞と、それを裏打ちする *Pax9* 陽性の歯原間葉細胞) への分化を認めている。特異的なマーカーの発現や組織形態においては免疫染色を用いて確認している。
- 3 発生学的に、歯胚原基は歯原上皮細胞と歯原間葉細胞から構成されるが、多能性幹細胞からこれら2つの細胞を同時に誘導する報告はいまだ存在しない。歯原上皮細胞への誘導方法の報告では、成体の歯から採取した細胞との共培養を要するため、ヒトでの応用を考えた場合には侵襲性が問題になる。加えて、歯原間葉細胞を誘導した報告は未だない。本研究では歯胚原基を構成するは歯原上皮細胞と歯原間葉細胞の2種類の細胞誘導法を確立した。将来の臨床応用を見据え、この培養方法では遺伝子導入などの強制誘導は行わず、発生を模した方法を用いている。将来、ヒト多能性幹細胞を用いた臨床応用における基盤技術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。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	落合 啓史
試験担当者	主査 押田 牙彦 		若林 俊彦 	室原 豊明 
	指導教授		有馬 寛 	

(試験の結果の要旨)

主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。

1. 口腔外胚葉への誘導方法の検討で、BMP4を用いた根拠について。
2. 口腔外胚葉の性質を持つことの裏付け方法について
3. 歯の再生医療における、歯胚原基への新規誘導方法の位置づけについて

以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、糖尿病・内分泌内科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。