

別紙 1 - 1

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 小川 晃一郎

論 文 題 目


Vasopressin-secreting neurons derived from human embryonic stem cells through specific induction of dorsal hypothalamic progenitors

(ヒト ES 細胞から背側視床下部への特異的な誘導による  
バソプレシン分泌ニューロンの分化法の確立)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 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

委員

勝野 雅央 

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、ヒト ES 細胞を用いて、視床下部のホルモンを産生するニューロンを分化させる培養技術の確立を目指した。胎児の発生過程を試験管内で再現する方針で培養法を工夫し、腹側あるいは背側の視床下部を限定して作ることが可能になった。背側視床下部へ誘導した細胞を半年間培養した結果、成熟した視床下部ホルモン産生神経細胞へ分化させることに成功した。こうして得たバソプレシン (AVP) ニューロンは、生体内同様、実際に AVP を分泌し、さらに分泌刺激に対して反応を示した。また、既報と比べ分化効率の向上も達成した。本研究の成果は尿崩症患者に対する再生医療の可能性を示しただけでなく、視床下部疾患の発症メカニズムの解明や新規薬剤の開発にも役立つ基本的な技術であると考えられる。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 移植部位について、Hardy 手術で届く下垂体後葉や下垂体茎への移植で AVP ニューロンが機能するならばヒトへの臨床応用がしやすいが、視床下部への正所性移植でないと機能しない可能性もある。また、移植細胞については、AVP のみに純化する方法およびその必要性、未分化細胞の除去方法、などの検討課題がある。現在は、マウス ES 細胞から誘導した AVP 分泌細胞をマウス大脳皮質に移植し長期生存を確認している。また、腎被膜下に移植し、Copeptin 陽性ニューロンの生着も確認している。
2. マウス ES 細胞での先行実験を参考に、長期に使用され品質がある程度判明しているヒト ES 細胞を用いて、基本的な分化法を今回確立した。最終的には、株ごとに分化傾向に差があるヒト iPS 細胞に応用する予定である。我々の系をヒト iPS 細胞に適用する場合、分化効率が低下する可能性があり、培養法の修正が必要になると予測される。
3. BMP4 と Shh の濃度勾配により神経管の背腹軸が形成される。初期胚のパターン形成には BMP シグナルが時空間的に厳密に制御されている必要がある。BMP4 および Shh 以外にも神経管の発生に関わる重要なシグナルはあるが、我々の系では BMP4・Shh が最も重要と考えられる。
4. 背側視床下部に特異的に分化誘導したことが最大の理由と思われる。
5. AVP と同様に背側視床下部に多く認められるオキシトシンニューロンの分化効率は本研究では低く、高率に誘導するには培養方法の修正を要すると考えられる。
6. 本研究では分散培養を行っており、分散により構造が壊れるためシナプスは認められないと思われるが、長期の平面培養の過程で形成されてくる可能性はある。また、凝集塊であればシナプスを形成している可能性があるため、今後検討予定である。

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	小川 晃一郎
試験担当者	主査	若林 隆彦	副査 <sub>1</sub>	室原 豊明
	副査 <sub>2</sub>	勝野 雅央	指導教授	有馬 寛
(試験の結果の要旨)				
<p>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。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 培養細胞の移植について</li> <li>2. なぜヒトES細胞で研究したのか？</li> <li>3. BMP・Shhシグナルについて</li> <li>4. バソプレシンだけなぜ他のホルモンより高率に分化したのか？</li> <li>5. オキシトシンの分化について</li> <li>6. シナプス形成について</li> </ol> <p>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。</p>				