

## 山添 太士 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

ナノファイバーによる Rac1 活性化を介したマウスおよびヒトにおける胚性幹細胞および人工多能性幹細胞の肝細胞分化

(The hepatic differentiation of embryonic stem cell and induced pluripotent stem cell of murine and human through Rac1 activation on synthetic nanofiber scaffold)

胚性幹 (Embryonic stem, ES) 細胞や人工多能性幹 (induced pluripotent stem, iPS) 細胞は多能性分化能、無限増殖能、自己複製能に特徴される細胞群であり、再生医療におけるドナー不足を解決できる魅力的な細胞ソースである。完全合成基材であるナノファイバーは、未分化の ES 細胞を増殖促進し、初代培養細胞の機能維持に優れていると報告されている。

そこで申請者は再生医療および研究利用のために、未同定物質を含むウシ胎児血清を用いない合成培地での分化誘導法を確立する目的で、ナノファイバー上での幹細胞の肝臓への分化誘導を検討した。

マウス ES および iPS 細胞はナノファイバー上で、通常の個体発生時に見られるような過程を模倣して、内胚葉への初期分化、肝臓系譜への運命付け、肝機能を獲得する成熟化という肝分化誘導を行うことができた。他の代表的な培養基材であるゼラチン・コラーゲンタイプ I・ファイブロネクチン・マトリゲルとの比較においても、内胚葉分化誘導効率、肝細胞分化マーカーの上昇、肝機能が有意に高かった。また ES 細胞がドーム状になるという細胞形態変化がナノファイバー上で見られ、細胞骨格を制御する Rho ファミリーの Rac1 が活性化していた。Rac1 の活性化阻害剤である NSC23766 によって分化マーカーの発現が低下した。

これらの研究によってマウス ES および iPS 細胞はナノファイバー上で、内胚葉への初期分化、肝臓系譜への分化、そして成熟化することを示した。また、ナノファイバーは Rac1 を活性化することで、マウスおよびヒトにおける ES および iPS 細胞の肝細胞分化を促進していることが明らかになった。

審査の過程においては、他の研究グループの開発した分化誘導系に対する優位性、分化誘導系と *in vivo* での発生の類似性、Rac1 の分化における役割、ナノファイバーの臨床応用に向けた問題点等について、様々な質疑応答がなされ、申請者から概ね適切な回答が得られた。

本研究は、生物学的素材に頼らない ES 細胞および iPS 細胞からの新しい肝臓細胞誘導系を確立したものであり、学術的価値のみならず将来的な再生医療の観点からも意義深いものである。よって学位の授与に値すると判断した。

審査委員長 小児科学担当教授

遠藤 文夫