

論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名 遠藤（齋藤）亜沙子

主論文の題目
および

掲載・審査委員名

題目 IGFII/Akt Signaling Regulates Myocyte Homeostasis in Human Induced Pluripotent Stem (iPS) Cells
(ヒト iPS 細胞における筋分化には IGFII/Akt シグナル伝達経路が重要である)

掲載誌 Journal of St. Marianna University 2013; 4: 41-48

主査 明間 立雄
副査 高木 正之
副査 藤谷 博人

[論文の要旨・価値]

骨格筋細胞の生理的修復は筋衛星細胞の融合によってなされるが、多量の筋損傷、筋疾患、加齢変化による筋量減少等では一般に衛星細胞からの十分な修復は困難である。そこで申請者らはヒト iPS 細胞（253G1 株、201B7 株）を用いて骨格筋細胞の分化誘導と細胞増殖を試みた。遺伝子導入実験では、所属研究室の先行研究でマウス ES 細胞からインスリン様成長因子 II（IGFII）遺伝子導入により骨格筋細胞の分化誘導に成功していることから、ヒト iPS 細胞に IGFII 遺伝子を導入し、RT-PCR と免疫染色を行った。14 日間培養の結果、IGFII、IGFIR、MyoD、myogenin が発現したが、MRF4 と dystrophin は発現せず、安定した細胞株の樹立は困難であった。そこで次にヒト iPS 細胞から胚様細胞塊（EB）を形成し、EB から筋分化培地を用いて筋細胞分化を試みた。その結果培養 5 日目に myoD と myogenin、12 日と 19 日目に MRF4 と dystrophin の mRNA が発現した。IGFII と IGFIR は全ての日に発現した。免疫染色でも MyoD、IGFIR、dystrophin の発現を確認した。また、LY294002（PI3K/Akt 経路抑制薬）により IGFII、MyoD、MRF4 遺伝子の発現が抑制された。これらの結果は、ヒト iPS 細胞から EB 形成を介することにより遺伝子マーカー上は筋細胞分化の初期誘導が可能であり、この分化誘導に IGFII と IGFIR/PI3K/Akt シグナル経路が重要であることを示唆する。本研究は、ヒト iPS 細胞から骨格筋細胞を分化誘導する上での基礎的な知見を明らかにしたもので、価値のある研究と認められる。

[審査概要]

平成 26 年 1 月 17 日に、鈴木指導教授ほか数名の陪席のもとで審査を行った。申請者による約 15 分間のプレゼンテーションの後、約 45 分間の質疑と英語読解力試験を行った。プレゼンテーションは模式図を用いたわかりやすい内容であった。質疑では、マウス ES 細胞とヒト iPS 細胞の分化誘導の違い、EB 形成を介することの意味、たんぱく発現をもって細胞分化といえるか、横紋構造などの細胞形態は形成されるか、PI3K/Akt シグナル経路は筋の分化に特異的かなど、多くの質問があり、申請者はほぼ適切に回答した。英文読解力はヒト ES および iPS 細胞由来の筋原細胞に関する最近の原著論文を指定して評価し、十分な読解力を持つと認めた。以上の審査結果から、申請者遠藤（齋藤）亜沙子君は学位授与に十分値すると評価した。

(最終) 試験結果の要旨

[研究能力・学識等]

1) 専門的知識

骨格筋の修復再生、iPS細胞の分化誘導等に関する知識を十分備えていると認められる。

2) 研究能力

細胞の分化誘導、培養、RT-PCR、免疫染色等の研究技術、能力を持ち、粘り強く研究を行うことができる。

3) 発表能力

口頭発表はわかりやすい。原稿に頼らないように、また論文発表において論旨を整理するように、なお改善の余地がある。

4) 研究意欲

iPS細胞へのIGFII導入により安定した細胞株樹立に至らなかったため、さらにEB形成を介して筋細胞分化を試みた点に研究意欲が現れている。また、sonic hedgehog導入など今後の具体的な研究アイデアを述べた。

5) 態度・人柄

落ち着いた態度で審査に臨んだ。研究に向き合う姿勢も真摯である。