

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Regulation of Mouse Induced Pluripotent Stem Cells Fate Using Bioengineered Extracellular Matrix Proteins.
著者(和文)	Adnan Nihad
Author(English)	Nihad Adnan
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10376号, 授与年月日:2016年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:小畠 英理,三重 正和,西山 伸宏,上田 宏,若林 憲一
Citation(English)	Degree:, Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10376号, Conferred date:2016/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	Adnan Nihad		
論文審査 審査員		氏 名	職 名		氏 名	職 名
	主査	小島 英理	教授		三重 正和	准教授
	審査員	西山 伸宏	教授	審査員		
		上田 宏	教授			
		若林 憲一	准教授			

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は「Regulation of mouse induced pluripotent stem cells fate using designed extracellular matrix proteins（新規細胞外マトリックスタンパク質によるマウス iPS 細胞の制御）」と題し、英語で書かれ、5 章より構成されている。

第 1 章「General introduction」では、本研究で用いられている iPS 細胞をはじめとした幹細胞について概説した後、幹細胞の増殖、分化等における細胞－細胞間、細胞－細胞外マトリックス間接着の重要性について述べ、新規細胞外マトリックスタンパク質の構築に必要な要素を明らかにし、本研究の目的と意義を述べている。

第 2 章「Regulation of stem cells fate towards neuronal lineages using N-cadherin-Fc」では、神経細胞等に発現する細胞間接着分子の 1 つである N-cadherin と抗体の定常領域を構成する Fc 領域を融合した細胞外マトリックスタンパク質（N-cadherin-Fc）を構築し、このマトリックスタンパク質上で培養した ES 細胞および iPS 細胞からの神経細胞分化の効率について検討を行っている。N-cadherin-Fc は、動物細胞発現系を用いた遺伝子工学的手法により作製を行っている。胚様体を形成させた ES/iPS 細胞をトリプシン処理により分散し、N-cadherin-Fc をコートした培養皿上で培養を行うと、一般的に利用されているゼラチンをコートした培養皿上で培養した場合に比べ、ES/iPS 細胞の神経細胞分化の指標となる神経突起の伸張が促進されたことを示している。また、N-cadherin-Fc 上で ES/iPS 細胞を培養すると、Rho-ROCK ならびに β -catenin シグナルが減少することを示し、N-cadherin-Fc 上で培養した際の神経細胞分化促進機構について明らかにしている。

第 3 章「Construction of a novel ECM protein for the long term maintenance of mouse iPSCs」では、マウス iPS 細胞の未分化状態の長期維持を目指し、マトリックスタンパク質の骨格となるエラスチン由来のペプチドの繰り返し配列（E）に細胞接着ペプチドである RGD 配列（R）と細胞間接着タンパク質である E/N-cadherin に結合するカドヘリン結合ペプチド（CBP）を融合した細胞外マトリックスタンパク質（ERE-CBP）を構築し、その機能評価を行っている。ERE-CBP は、大腸菌発現系を利用した遺伝子工学的手法により作製を行っている。マウス iPS 細胞を ERE-CBP をコートした培養皿上で培養を行うと、ゼラチンをコートした培養皿上での培養に比べ、iPS 細胞の未分化状態の指標であるアルカリフォスファターゼ活性、Oct3/4 遺伝子発現が増加していることを示している。また、ERE-CBP 上で培養した iPS 細胞は、継代を十数回繰り返した後も未分化状態を維持していることを示し、構築した ERE-CBP が、マウス iPS 細胞の未分化状態維持に適した細胞外マトリックスであることを明らかにしている。

第 4 章「Differentiation of iPSCs towards neuronal lineage on immobilized CAM surfaces」では、第 3 章で構築した ERE-CBP に加え、エラスチン由来ペプチドの繰り返し配列を骨格として、ラミニン由来細胞接着ペプチドを融合したマトリックスタンパク質 Ep20, EY, EIEY（p20: RNIAEIIKDI, Y: YIGSR, I: IKVAV）を構築し、これらのマトリックスタンパク質上で培養した iPS 細胞の神経細胞分化の効率について検討を行っている。胚様体形成させたマウス iPS 細胞を ERE-CBP 上で培養した場合、エラスチン由来のペプチドの繰り返し配列（E）に細胞接着ペプチドである RGD 配列（R）を融合しただけの ERE に比べ、胚様体の接着率が高いこと、神経突起伸張が促進されることを示している。また、ラミニン由来ペプチドを融合したマトリックスタンパク質を単独あるいは組み合わせて同様の評価を行ったところ、いずれにおいても天然のラミニン同様に接着した胚様体は、神経細胞特異的タンパク質を標的とした免疫染色において陽性であることを示し、ラミニン由来ペプチドを融合したマトリックスタンパク質が iPS 細胞の神経細胞分化の促進に適していることを明らかにしている。

第 5 章「General conclusion and future perspective」では、各章で得られた結果を総括すると共に、今後の展望について述べている。

これを要するに、本論文は、細胞接着を担うタンパク質の機能性ドメインあるいはペプチド配列を用いて、新規な細胞外マトリックスを構築し、そのマトリックス上で ES/iPS 細胞を培養した際の効果を明らかにし、今後の組織工学の発展に資する多くの知見を得たものであり、工学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（工学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

