

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	ヒト多能性幹細胞から膵臓 細胞への分化誘導における亜鉛役割の解明
Title(English)	Elucidating the role of zinc in pancreatic cell differentiation using human pluripotent stem cells
著者(和文)	Erinn ツーシェン
Author(English)	Zixuan Erinn Sim
出典(和文)	学位:博士(学術), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12249号, 授与年月日:2022年9月22日, 学位の種別:課程博士, 審査員:糸 昭苑,白木 伸明,木村 宏,山口 雄輝,小倉 俊一郎
Citation(English)	Degree:Doctor (Academic), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12249号, Conferred date:2022/9/22, 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	Erinn Sim Zixuan	
論文審査 審査員		氏名		職名	氏名	職名
	主査	糸 昭苑		教授	白木 伸明	准教授
	審査員	木村 宏		教授		
		山口 雄輝		教授		
小倉 俊一郎			准教授			

## 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Elucidating the role of zinc in pancreatic  $\beta$  cell differentiation using human pluripotent stem cells」と題し、英文で書かれ6章より構成されている。

第一章「序論」では、本研究の背景として、亜鉛および亜鉛輸送体、多能性幹細胞を用いた膵臓 $\beta$ 細胞の分化誘導手法、多能性幹細胞と膵臓 $\beta$ 細胞における亜鉛およびメチオニン代謝の役割に関する知見について概説し、さらに本研究の目的および各章の概要について述べている。

第二章「メチオニン代謝による多能性幹細胞の未分化性維持や膵臓 $\beta$ 細胞への分化誘導の制御」では、メチオニン欠乏条件での前処理が多能性幹細胞から膵臓 $\beta$ 細胞への分化誘導を促進したと述べている。また、詳細に調べた結果、メチオニン欠乏条件で処理した多能性幹細胞では亜鉛排出輸送体 ZnT1 をコードする遺伝子 *SLC30A1* の顕著な発現増加および細胞内タンパク質結合型亜鉛含量の減少が確認されたと述べている。さらに、細胞抽出液を用いた実験から、メチオニン欠乏時ではホモシステインを介して、多能性幹細胞内のタンパク質結合型亜鉛が減少したと述べている。また、キレート剤で亜鉛を除いた亜鉛欠乏培地を用いて多能性幹細胞を培養した結果、多能性幹細胞の未分化マーカーの発現減少や分化マーカーの発現上昇など、メチオニン欠乏処理で観察された現象を模倣したことから、亜鉛はメチオニンの下流で働くことを推測したと論じている。

第三章「多能性幹細胞の未分化性維持における亜鉛の役割」では、亜鉛不含で、亜鉛の濃度調整が可能な基礎培地について紹介した。そして、亜鉛不含培地で培養した結果、未分化細胞マーカーの発現減少および分化細胞マーカーの発現上昇が確認されたことから、亜鉛は多能性幹細胞の増殖と未分化性維持に関与すると結論した、と述べている。

第四章「多能性からの膵臓分化における亜鉛の役割」では、多能性幹細胞を用いた膵臓 $\beta$ 細胞の分化培養過程における亜鉛の役割について述べている。まずは内胚葉分化では、亜鉛不含の培養条件において、SOX17 陽性の内胚葉細胞への分化が促進されたことを述べている。複数の細胞株を用いて内胚葉分化を行ったところ、亜鉛を含む培地では分化効率が悪い細胞株でも亜鉛不含培地では効率的に分化できるようになった、と述べている。次に、膵臓 $\beta$ 細胞への分化には、内胚葉分化とは異なり亜鉛を必要とする、と述べている。最終的には、メチオニン欠乏と亜鉛欠乏の培養条件を組み合わせ、多能性幹細胞からの膵臓 $\beta$ 細胞の分化誘導に応用し、糖応答性インスリン分泌能を示す成熟な膵臓 $\beta$ 細胞への分化誘導に成功したと述べている。

第五章「多能性幹細胞におけるメチオニン代謝と亜鉛との関係性」では、未分化多能性幹細胞におけるメチオニンと亜鉛の関連性について論じている。まず、siRNA を用いた *SLC30A1* 阻害実験ではメチオニン欠乏条件下で観察された遺伝子発現の変動を模倣しなかったことから ZNT1 は亜鉛のセンサーとして働いているが、細胞内タンパク質結合型亜鉛の量を制御するわけではない、と考察した。その後、亜鉛不含培地および含有培地で培養した多能性幹細胞についての RNA sequencing による網羅的遺伝子発現解析を実施し、メチオニン不含培地で処理した多能性幹細胞と比較した結果、亜鉛やメチオニン欠乏に共通してメタロチオネインおよび亜鉛排出輸送体に関わる分子の発現が促進されたと述べている。さらに、メチオニン代謝物測定を実施し、亜鉛不含条件下では、メチオニン代謝経路が影響されたと論じている。ホモシステインからメチオニンへの変換を活性化する MTR と BHMT 酵素が亜鉛要求性酵素であり、亜鉛不含条件においてはメチオニン代謝が影響を受けていると考察した。

第六章「結論」では、本研究の要点を概説し、本研究の意義と今後の展望を述べている。

以上を要するに、本論文では、多能性幹細胞および膵臓 $\beta$ 細胞分化誘導系を用いて、培地中の栄養因子であるメチオニンと亜鉛に着目し、両者の関係性を解明したものであり、学術上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(学術)の学位論文として、十分な価値があるものと認められる。