

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Generation of induced pluripotent stem cell-derived beta-cells in blood amino acids-like medium
著者(和文)	ALIMarwa Ahmed
Author(English)	Marwa ALI Ahmed
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12501号, 授与年月日:2023年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:糸 昭苑,白木 伸明,小倉 俊一郎,立花 和則,田川 陽一
Citation(English)	Degree:Doctor (Academic), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12501号, Conferred date:2023/6/30, 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

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	Marwa Ahmed Allam Hussein Ali	
論文審査員	氏 名	職 名	氏 名	職 名
	主査 条 昭苑	教授	田川 陽一	准教授
	白木 伸明	准教授		
	小倉 俊一郎	准教授		
	立花 和則	准教授		

本論文は「Generation of induced pluripotent stem cell-derived beta-cells in blood amino acids-like medium」と題し、英文で書かれ五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、細胞培養における培地の栄養組成の重要性、Embryonic stem-cell (ES 細胞) および Induced pluripotent stem cells (iPS 細胞) に代表される多能性幹細胞を用いた膵臓細胞の分化誘導手法、膵臓 β 細胞分化研究における現状の問題点および解決すべき課題、細胞分化における栄養因子の役割に関する知見について述べている。そして、ヒト血液中のアミノ酸組成をより再現した培地を用いることでヒト iPS 細胞から機能的な膵臓 β 細胞を分化誘導できるのではないかとこの本研究の目的、および各章の概要について述べている。

第二章「ヒト血液中アミノ酸組成を再現した培地(BALM)を用いた iPS 細胞由来 β 細胞の作製」では、ヒト血漿中のアミノ酸濃度を参考にした新しい培養液を調製し、当該培地を利用することでヒト iPS 細胞から内胚葉を効率的に分化できることを述べている。さらに、BALM 培地で分化したヒト iPS 細胞は、膵臓前駆細胞、内分泌前駆細胞、内分泌細胞へと分化し、最終的にはグルコースに応答してインスリンを分泌する成熟膵臓 β 細胞へと分化したことを述べている。

第三章「アミノ酸と内胚葉分化との関係」では、まず、リボソーム蛋白質 S6 のリン酸化を指標にして mTOR 活性を評価し、BALM で培養したヒト iPS 細胞は mTOR 経路が阻害されていること、さらに通常培地での培養においても mTOR 阻害薬添加により内胚葉分化が促進されることを確認し、BALM が mTOR 経路阻害を介して内胚葉分化を促進すると推測したと述べている。さらに個別のアミノ酸について検討を行い、BALM と比較して通常培地にそれぞれ 3 倍および 6 倍含まれるメチオニンとアルギニンがヒト iPS 細胞の mTOR 経路を活性化することを確認し、通常培地に含まれるメチオニンとアルギニンが協調して働き、内胚葉分化を阻害すると結論したと述べている。また、通常培地および生理的培地で培養したヒト iPS 細胞の代謝プロファイルを LC-MS/MS で取得し、ヒト iPS 細胞は通常培地ではアラニンとオルニチンを排出するが、生理的培地で培養すると逆にアラニンとオルニチンを取り込むこと、また、生理的培地での培養では、セリン、スレオニン、リジン、アルギニン、バリン、メチオニン、チロシン、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニンなど多くのアミノ酸の利用度が通常培地に比べ、少ないことを確認し、生理的環境で培養したヒト iPS 細胞は、通常培地群に比べ、アミノ酸の利用が少ない儉約状態であると述べている。

第四章「アルブミンを含まないヒト血液アミノ様培地を用いた iPS 細胞由来 β 細胞の作製」では、第二章での膵臓分化誘導方法の開発をさらに進め、アルブミン不含未分化維持培地を用いて iPS 細胞を馴化培養したのちに、アルブミン不含ヒト血液アミノ様培地を用いる新規膵臓分化誘導方法を構築したと述べている。分化細胞の性状を遺伝子発現やインスリン分泌実験により詳細に検討した結果、アルブミン不含ヒト血液アミノ様培地を用いて分化した細胞はインスリン陽性の膵臓 β 細胞へと分化するが、インスリンタンパク質の分泌量はアルブミン含有培地を用いた場合と比較すると顕著に低いことを確認し、アルブミンが膵臓 β 細胞の成熟化に重要であると述べている。

第五章「結語」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、本論文は、血液中アミノ酸組成を再現した培地を用いた新たな膵臓 β 細胞分化系を構築し、その系を用いて培地中の栄養因子、特にアミノ酸の細胞分化における役割について研究したものであり、培地に過剰に含まれるアミノ酸が細胞分化を阻害することを示したものであり、理学的貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。