

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	下 門 大 祐
主 論 文 題 名				
Rapid, efficient, and simple motor neuron differentiation from human pluripotent stem cells (ヒト多能性幹細胞からの迅速、高効率かつ簡便な運動ニューロンの分化誘導)				
(内容の要旨)				
<p>ヒト多能性幹細胞は再生医療への応用や難治性疾患のモデルとしての応用が期待されている。特に神経細胞は生検が困難であるため、神経変性疾患患者より樹立した疾患特異的人工多能性幹細胞から誘導された神経細胞は、疾患モデルとして有用である。運動神経変性疾患の病態解析と創薬研究のために、本研究ではヒト多能性幹細胞から迅速、高効率かつ簡便に運動ニューロンを分化誘導する方法を構築した。GSK3β阻害剤と2種類のSMAD阻害剤を分化初期に加えることでPAX6陽性、SOX1陽性の神経前駆体を一週間で誘導した。さらに、これらの薬剤の添加期間直後のタイミングでレチノイン酸およびソニックヘッジホッグシグナルを亢進するpurmorphamineを加えることで、2週間でHB9陽性、ISL-1陽性の運動ニューロンを誘導することができた。この運動ニューロンを運動ニューロンの成熟用の培地で4週間培養したところ、コリンアセチルトランスフェラーゼ陽性かつ細胞体の大きいなどの成熟した運動ニューロンの特徴をもつ細胞に変化した。加えて、この運動ニューロンはヒト筋管に投射し、筋との接合部においてα-ブングロトキシンに認識されるアセチルコリンレセプターのクラスターを形成した。また、この誘導方法では3種類の人工多能性幹細胞からほぼ同程度の効率で運動ニューロンを取得することができた。HB9陽性細胞を可視化するためのHB9レポーターレンチウイルスの構築も行った。このHB9レポーターの特異性は免疫染色化学および蛍光活性化セルソーティング(FACS)を用いたVenus強陽性画分の遺伝子発現解析によって検証され、HB9陽性運動ニューロンを効率よく可視化および純化する上で十分な機能を持つことが確認された。</p> <p>この人工多能性幹細胞からの運動ニューロン誘導方法およびレンチウイルスによるレポーターシステムは、疾患特異的人工多能性幹細胞による運動神経変性疾患の病態解析を容易にすると考えられる。</p>				