

## 論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨の公表

学位規則第 8 条に基づき、論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

フリガナ 氏名 (姓、名)	ツカモト タスク 塚本 輔	授与番号 甲 1499 号
学位の種類	博士( 理学 )	授与年月日 2021 年 3 月 31 日
学位授与の要件	本学学位規程第 18 条第 1 項該当者 [学位規則第 4 条第 1 項]	
博士論文の題名	人工多能性幹細胞からの心筋分化誘導における STAT3 シグナル制御と人工キメラ受容体の応用	
審査委員	(主査)川村 晃久 (立命館大学生命科学部教授)	天野 晃 (立命館大学生命科学部教授)
	白壁 恭子 (立命館大学生命科学部教授)	
論文内容の要旨	<p>本論文は、induced pluripotent stem (iPS) 細胞からの心筋分化誘導において、STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3)シグナル伝達経路を制御する人工キメラ受容体の開発を研究対象としたものである。第 1 章では、再生医学と多能性幹細胞に寄せられる社会的期待とその課題について述べ、その解決のため、多能性幹細胞の機能制御を可能にする分子基盤の理解の重要性について論じた。代表的な分子機構として、心筋分化誘導時における G-CSF (Granulocyte Colony Stimulating Factor)を起点としたシグナル伝達系に着目し、これを人工キメラ受容体の応用により代替制御することで、より経済的かつ特異的な心筋分化系を構築することを研究の主眼とした。第 2 章では、研究目的の達成のために用いた実験手法と実験材料についてまとめた。第 3 章では、はじめに、本研究内で構築した人工 G-CSF 受容体の構造について述べた。すなわち、内在性の G-CSF 受容体の細胞外領域を欠損させ、代替リガンドである FL (Fluorescein)に対する一本鎖抗体の可変領域を融合させた人工キメラ受容体について記載した。次に、作製した人工キメラ受容体を実際にマウス iPS 細胞に導入し、代替リガンドによる刺激を行った際の STAT3 シグナル活性化に関する解析結果について述べた。さらに、代替リガンド刺激が心筋分化誘導効率に及ぼす影響について解析し結果を記述した。最後に、本研究で得られた心筋細胞の特性を確認するために、定量 PCR を用いた遺伝子マーカー解析、免疫組織化学的解析を用いた形態的解析、カルシウムオシレーション観察による機能解析を行い、その結果について論じた。第 4 章では、上記の実験結果を受けて、iPS 細胞からの心筋分化誘導における人工 G-CSF キメラ受容体の有用性とその発展的利用の可能性について述べた。さらに、人工キメラ受容体全般の医療応用の可能性と、再生医療の将来展望についても論じた。</p> <p>本論文では、構築した人工キメラ受容体に対する代替リガンド刺激により、時間応答性及び濃度依存性を有する STAT3 シグナルの惹起が可能であることが明らかとなった。また、代替リガンド刺激により、iPS 細胞からの機能的な心筋分化を促進可能であることが示された。以上の研究成果は、人工キメラ受容体を iPS 細胞の分化誘導に応用した初めての例であり、iPS 細胞が抱える医療応用面での課題に対し多角的に寄与するものと期待される。</p>	

論文審査の結果の要旨

本論文は、iPS 細胞からの経済的かつ効率的な心筋分化誘導のために、発生期の心発生に重要であり、多能性幹細胞からの心筋分化誘導に促進的な効果をもたらすことが知られている G-CSF 及びその受容体に着目し、その活性化制御に人工キメラ受容体を応用した点に特徴があり、以下の点に関して評価することができる。

(1)安価かつ化学的に安定な分子を代替リガンドとして、これに対する一本鎖抗体の可変領域を導入した人工 G-CSF 受容体を導入することで、iPS 細胞からの機能的な心筋分化誘導を促進できることを実証した点が高く評価できる。

(2)さらに、この代替リガンド刺激による分化誘導の促進作用は、分化誘導における時期によって効果が異なること、JAK/STAT3 を介した細胞内シグナル伝達依存的事であることを提唱した点が高く評価できる。

(3)心筋に対する再生医療は、心筋細胞の変性や喪失を伴う心不全などに対する革新的な治療法になりうる一方で、その実用化のためには、心筋細胞の効率的な調製と経済性の両立が必要不可欠である。本論文で用いられた代替リガンドの調製コストは、本来のリガンドである G-CSF タンパク質に比較して、概算で 20 分の 1 程度であり、安価に分化誘導を促進可能であることが示された。人工キメラ受容体は生体内にある生理活性分子に対しては不応答性であり標的特異性を有することから、リガンドの代替による経済性の改善だけでなく、細胞移植後のリガンド投与による生着促進といった発展的な応用も期待できる。人工キメラ受容体は、G-CSF 受容体以外に対しても構築が可能であり、本論文で示された手法を種々の分化誘導因子に適用することで再生医療への大きな貢献が期待され、高く評価できる。

本論文の審査に関して、2021 年 1 月 28 日（木）11 時 00 分から 12 時 30 分まで、バイオリンク演習室 5（ZOOM 会議により同時配信）において公聴会を開催し、申請者による論文要旨の説明の後、審査委員は申請者に対する口頭試問を行った。各審査委員および公聴会参加者より、過去に構築された人工キメラ受容体との差異、人工キメラ受容体に適した構造、抑制型因子への適用の可能性、iPS 細胞の分化と個体発生との関連性、代替リガンドの改良の可能性など多くの質問が出され活発な議論がなされたが、いずれの質問に対しても申請者の回答は適切なものであった。また、本論文提出後、主査および副査はそれぞれの立場から論文の内容について評価を行った。

以上により、論文審査と公聴会での口頭試問結果を踏まえ、審査委員会は一致して、本論文は本研究科の博士学位論文審査基準を満たしており、博士学位を授与するに相応しいものと判断した。

試験または学力確認の結果の要旨

本論文の公聴会は 2021 年 1 月 28 日（木）11 時 00 分から 12 時 30 分まで、バイオリンク演習室 5（ZOOM により同時配信）で行われた。

申請者は、本学学位規程第 18 条第 1 項該当者であり、論文内容および公聴会での質疑応答を通して、申請者が十分な学識を有し、博士学位に相応しい学力を有していることが確認された。

以上の諸点を総合し、申請者に対し、博士（理学 立命館大学）の学位を授与することが適当であると判断する。