

## 審査結果の要旨

氏名 高山 直也

本研究は再生医療実現に向け、血小板製剤の安定した供給を目指して、ヒト ES 細胞及びヒト iPS 細胞から血小板を試験管内で産生する系の開発を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ヒト ES 細胞から血球分化を促進するサイトカイン、フィーダー細胞の組み合わせを検討した。最終的に血管内皮増殖因子存在下でヒト ES 細胞とフィーダー細胞を共培養することで血液前駆細胞を内部に含んだ内皮細胞で構成される特徴的な多胞性の嚢状構造体 ES-sac を形成することを見出した。
2. Sac 内部の血液前駆細胞を TPO を含めたサイトカイン存在下で培養することで過去の報告より数十倍の効率で成熟した巨核球を誘導し、世界で初めてヒト ES 細胞から血小板の分化誘導に成功した。
3. 産生された血小板はヒト末梢血血小板と同様に重要な機能分子である CD41a や CD42a、CD9 を発現していたが、CD42b (GPIb $\alpha$ ) は一部の血小板で発現が失われていた。過去の報告をもとに、培養上清中に存在するメタロプロテアーゼを阻害する化合物 GM6001 を添加することでヒト ES 細胞由来の血小板の CD42b 切断を抑制することに成功した。ヒト ES 細胞由来の血小板で CD42b の発現が低下する原因はメタロプロテアーゼによる切断であることを証明した。
4. 産生されたヒト ES 細胞由来の血小板は末梢血血小板と比較すると機能は劣るものの、血栓形成に必須であるインテグリンの活性化 (インサイドアウトシグナル) 及び引き続いて起きるダイナミックな骨格変化 (アウトサイドインシグナル) を示し、機能を有していることが証明された。
5. 外胚様由来の細胞である皮膚細胞から iPS 細胞を作成し、ES 細胞と同様に中胚葉へ分化させたところ、嚢状構造体 (sac) の形成や培養期間、産生される多系統の血球細胞など ES 細胞とほぼ同等の分化能力を持っていることが確認され、皮膚細胞がリプログラミングの過程を経て、胚葉を超えた分化を示すことが証明された。
6. 皮膚から作成した血小板も ES 細胞から誘導した血小板とほぼ同等の機能を保持しており、将来的に拒絶を受けないオーダーメイドの血小板製剤が供給できる可能性を示すことができた。

以上、本論文はヒト ES 細胞及びヒト iPS 細胞から世界で初めて機能を有する血小板の誘導に成功した。将来的な再生医療への応用や血小板造血に関わる疾患の病態解明へ貢献すると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。