

氏名	坂本倫子
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博乙第 4277 号
学位授与の日付	平成20年12月31日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文題目	Embryonic Stem Cells Cultured in Serum-Free Medium Acquire Bovine Apolipoprotein B-100 from Feeder Cell Layers and Serum Replacement Medium (無血清培地で培養した胚性幹細胞はフィーダー細胞と血清置換培養液からウシアポリポ蛋白B-100を獲得している)
論文審査委員	教授 許南浩 教授 二宮善文 准教授 松浦栄次

#### 学位論文内容の要旨

様々な動物成分を含んだ培養系で培養した細胞は異種抗原を獲得して免疫応答を惹起するため、臨床応用するには大きな障害になっていることがこれまでに報告されています。胚性幹細胞は再生医療において様々な可能性を持った資源であり、一般にマウス繊維芽細胞のフィーダー細胞上で、血清置換培養液またはウシ胎児血清含有培養液で培養、継代されています。ウシ胎児血清含有培養液で培養した細胞を人に治療応用した場合、2回目以降の治療で強い抗体反応が惹起された事を近年我々は報告しました。この抗体反応はウシアポリポ蛋白100に特異的でありました。アポリポ蛋白100は低密度リポ蛋白の主要構成蛋白であり、細胞表面上に存在する低密度リポ蛋白受容体に結合し細胞内へ取り込まれます。今回我々は、フィーダー細胞上で血清置換培養液を用いて培養した胚性幹細胞はフィーダー細胞と培養液自体からウシアポリポ蛋白100を獲得しており、取り込まれたウシ低密度リポ蛋白は胚性幹細胞の増殖に不可欠な栄養因子になっていることを見出しました。

#### 論文審査結果の要旨

様々な動物成分を含んだ培養系で培養した細胞は異種抗原を獲得して免疫応答を惹起し、治療的応用を妨げることがある。中でも、ウシアポタンパク質 B-100 (bApo-B) が中心的な免疫原となる可能性が見出された。坂本倫子君は、治療用の細胞ソースとして有望な ES 細胞の培養系では、bApo-B が最終的な細胞標品に残存する可能性があることから、その様相を解析した。まず、bApo-B はヒトリンパ腫細胞やマウス繊維芽細胞に吸着し、洗浄しても除去できず、その後徐々に培地中に放出されることを示した。ウシ胎児血清を含む培地で一度培養したマウス胎児繊維芽細胞を無血清培地でインキュベートした馴化培地はヒトリンパ腫細胞の増殖を促進し、その増殖は bApo-B の受容体に対する抗体で抑制された。LDL はマウス ES 細胞の増殖を程度は低いながらも促進した。以上から坂本君は、ウシ血清を含む培地で培養された細胞や血清代替培地は bApo-B を含み、ES 細胞が bApo-B に汚染されることを明らかにした。予備審査委員会は、本研究が治療用細胞を開発するにあたって、培地成分の混入に細心の注意が必要であることを明らかにしたもので、大きな意義があると判断した。

よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。