

## 論文審査の要旨及び担当者

| 報告番号   | (甲) 乙 第 | 号             | 氏 名           | 二 瓶 義 廣 |
|--|---------|---------------|---------------|---------|
| 論文審査担当者 主 査 内 科 学 鈴 木 則 宏  |         |               |               |         |
| 解剖学 仲 嶋 一 範  |         | ゲノム医学 小 崎 健次郎 |               |         |
| 内科学 福 田 恵 一  |         |               |               |         |
| 学力確認担当者：   |         |               | 審査委員長：仲 嶋 一 範 |         |
| 試問日：平成25年10月 1日  |         |               |               |         |
| ( 論 文 審 査 の 要 旨 )  |         |               |               |         |
| <p>論文題名：Enhanced Aggregation of Androgen Receptor in Induced Pluripotent Stem Cell-derived Neurons from Spinal and Bulbar Muscular Atrophy<br/>(球脊髄性筋萎縮症iPS細胞由来神経細胞におけるアンドロゲン受容体の凝集亢進)</p> <p>球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) は、アンドロゲン受容体 (AR) 遺伝子のCAGリピート数の異常延長を原因とする緩徐進行性の下位運動ニューロン疾患である。本研究ではSBMA患者由来iPS細胞 (iPSC) の樹立と神経細胞への分化誘導を行い、AR蛋白についてフィルターリターデーションアッセイ法 (FRA) などを用いて生化学的解析を行った。SBMA-iPSC由来神経細胞はSBMAの病態の中核である凝集ARの増加を再現することが可能であり、薬剤スクリーニングツールとしても有用であることが示された。また、SBMA-iPSCにおけるdihydrotestosterone (DHT) による凝集ARの増加は神経組織で優位に見られる現象 (neuron-dominant phenotype) であることが示唆された。</p> <p>審査ではまず、運動ニューロンへの分化効率が高くなく、iPSCは一般にクローン間で差が大きいことから、2クローンのみでは不十分ではないか、各クローンの分化効率はどうかとの質問がなされた。運動ニューロンへの分化に成功したものが2クローンのみであったため、その2クローンを実験に用い、分化効率は10%弱であったとの回答がなされた。また、パーキンソン病患者由来iPSC (PD-iPSC) をコントロールに用いているが、PD-iPSCはドパミン神経に分化しやすいクローンと考えられ、運動ニューロンへの分化効率がSBMAと同等であることを証明する必要があるとの指摘がなされ、PD-iPSCの運動ニューロンへの分化は行っていないと回答された。更に、DHTに対するAR凝集がニューロン特異的反応である分子機序についての質問がなされた。機序については不明だが、一般にニューロンは脆弱な細胞であり、異常タンパク質の分解機構が線維芽細胞よりも脆弱なのではないかと考えているとの回答がなされた。電子顕微鏡での観察やgenetic rescueの検討も必要との指摘もなされた。対照の選び方についてさらに討論がなされ、家系内の女性保因者からiPSを樹立すれば、変異アレルを有するX染色体を不活化した細胞と正常アレルを有するX染色体を不活化した細胞が得られ、前者はgenetic rescueに近い状況を再現しているとの考察が得られた。</p> <p>長期間培養した場合凝集化ARはできやすくなるのかとの質問がなされたが、現段階では技術的に長期培養困難であると回答された。FRAのみでは生化学的特徴の確認は不十分であり、長期培養できれば免疫染色で凝集化ARが確認できる可能性があることや、細胞死についても検討が必要であるとの指摘がなされた。今後の研究にSBMA-iPSCをどう利用していくかについて質問がなされ、より効率のよい運動ニューロンへの分化誘導法を確立し、<i>in vivo</i>で運動ニューロンをソーティングして、薬剤スクリーニングツールとして用いるとの回答がなされた。これに対し、運動ニューロン単独では、長期培養は困難であり、グリアなどと共培養したあと運動ニューロンのみを取り出すべきとの指摘がなされた。本研究により開発されたシステムの臨床的有用性について討議がなされ、近年SBMAモデルマウスにより有効性が示唆されているセロトニンアゴニスト等の薬剤のスクリーニングツールとしての応用が期待されることが説明された。</p> <p>以上のように、本研究はさらに検討されるべき点が残されているものの、SBMA-iPSCの樹立と生化学的特徴の再現を初めて示した報告である点が高く評価された。</p> |         |               |               |         |