

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	沼 澤 佑 子
論文審査担当者 主 査 小児科学 高 橋 孝 雄 内科学 鈴 木 則 宏 解剖学 仲 嶋 一 範 生理学 柚 崎 通 介 学力確認担当者： 審査委員長：鈴木 則宏 試問日：平成27年 1月13日				
(論文審査の要旨) 論文題名：Involvement of ER Stress in Dysmyelination of Pelizaeus-Merzbacher Disease with <i>PLP1</i> Missense Mutations Shown by iPSC-Derived Oligodendrocytes (PLP1ミスセンス変異によるPelizaeus-Merzbacher病の髄鞘形成不全における小胞体ストレスについてのiPS細胞由来オリゴデンドロサイトをを用いた解析) Pelizaeus-Merzbacher病(PMD)はPLP1(proteolipid protein 1)遺伝子変異を原因とする髄鞘形成不全症である。PLP1ミスセンス変異を有する症例では小胞体(ER)ストレスが病態形成に関与していることが示唆されてきたが、患者のオリゴデンドロサイト(OL)でも、実際にERストレスに変化が起こっているのかは明らかではなかった。ヒトiPS細胞技術を用いれば、患者自身の細胞を用いて病態を連続的に分子レベル・形態レベルで評価できることが期待される。そこで本研究では、ミスセンス変異を有する患者2名からiPS細胞を樹立しOLへ分化誘導させ病態解析を行った。患者由来のOLでは変異PLPの小胞体への蓄積、症状の重症度と相関するERストレス感受性亢進、アポトーシス細胞の増加、髄鞘構造の低形成が認められたことから、ミスセンス変異を有する症例の髄鞘形成不全症にERストレスが関与している可能性を示した。 審査では、分化効率の解析法を問われ、単一細胞培養ではOLへの分化が乏しく定量解析が困難であったため、浮遊培養塊を接着培養し各塊から生じる細胞数を基準に定量解析したと回答された。患者iPS細胞で幼弱OLの分化効率が高かった理由を問われ、患者iPS細胞では神経系への分化指向性を有する株を選択したこと、アポトーシスに伴いオリゴデンドロサイト前駆細胞が代償的に増加した可能性があること、が挙げられた。アポトーシスの亢進にもかかわらず、患者iPS細胞で成熟OL数が維持された理由を問われ、完全に細胞死に至っていない細胞を計数したことが一因である可能性があるとして回答された。変異PLPの局在についてcisゴルジ抗体での免疫染色やPLPの糖鎖解析を行うべきであったと助言された。成熟OLのERストレスマーカー発現について問われ、成熟OLを分離する抗体が存在せず検討が困難であったこと、一般にERストレスが関与する病態でも実際にストレスを加えて初めて差が生じることが説明された。ERストレス応答に伴うPLP減少を示すべきであったと助言された。本疾患の罹患率や症状、また髄鞘の病理所見について問われ、適切に回答された。髄鞘の定量解析では神経線維の径も定量化すべきであったと助言された。直接誘導のメリットについて問われ、誘導時間短縮には有効であるが元となる細胞数に限りがあるため継続実験を行うには不向きと回答された。薬剤の有効性を検証する実験系への発展について問われ、細胞を大量培養し純化する技術やハイスループット解析系の構築により薬剤スクリーニングに資することができるようにと回答された。 以上、検討すべき課題は残されているが、ヒトiPS細胞からOLの分化誘導系を確立することによりPMDにおけるミエリン形成異常の病態解析に貢献した点で評価すべき論文であると認められた。				