

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	(甲) 乙 第	号	氏 名	下 門 大 祐
論文審査担当者	主 査	生理学	岡 野 栄 之	
	分子生物学	塩 見 春 彦	システム医学	洪 実
	外科学	吉 田 一 成		
学力確認担当者：			審査委員長：塩見 春彦	
			試問日：平成28年 2月 3日	
(論文審査の要旨)				
論文題名：Rapid, efficient, and simple motor neuron differentiation from human pluripotent stem cells (ヒト多能性幹細胞からの迅速、高効率かつ簡便な運動ニューロンの分化誘導)				
<p>球脊髄性筋萎縮症 (Spinobulbar Muscular Atrophy, SBMA) に対するヒト由来の疾患モデル作成に向けて、ヒト多能性幹細胞からの迅速、効率的な運動ニューロンの分化誘導の手法が構築された。この方法では50%前後の高効率、20日程度の短期間で運動ニューロンを誘導することができた。この運動ニューロンは高純度のまま4週間以上維持が可能で、成熟を経時的に観察でき、骨格筋に投射する能力を有していた。<i>HB9</i>遺伝子の発現を可視化するレンチウイルスレポーターによって、運動ニューロンを効率よく可視化および純化する方法も示された。</p> <p>審査では、この方法で誘導された運動ニューロンが生体内のものにどの程度近いのかが問われた。対して、遺伝子発現と骨格筋との神経筋結合の形成などの観点から、運動ニューロンと考えて良いものであるが、電気生理的な解析および骨格筋を駆動する能力を有することの確認は、今後の課題であると回答された。次いで、運動ニューロンの成熟が十分であるか、また、それをどのように判断するかを問われた。これに対し、培養4週間目では細胞体の大きさが生体内の運動ニューロンとほぼ同レベルの直径20 μm程度に達すること、生体内の成熟した運動ニューロンで発現するChATやSynaptophysinが発現することから、成熟は培養4週間目において十分であると判断できるが、さらに長期にわたって成熟を観察すると回答された。また、誘導された細胞のうち運動ニューロン以外のニューロンが何であるかと問われた。対し、胚様体中心に位置し、レチノイン酸やソニック・ヘジホグシグナルの入らなかったことにより生じた前脳などのニューロンの可能性、また、運動ニューロンに近い領域特異性を持つGABA動作性ニューロンである可能性があるかと回答された。今回の<i>HB9</i>レポーターが既存の運動ニューロンを可視化するレポーターに対し、何が優れているかを問われた。対し、特定の<i>HB9</i>エンハンサーとミニマルプロモーターの組み合わせによってバクターを小さくしたことで、タイターや感染効率が従来に比べて遥かに高いものになったことが回答された。また、運動ニューロンと骨格筋の共培養系でどのような骨格筋を用いたか、また、病態解析ではどのような物を使用するかを問われた。対して、本報告ではヒト骨格筋前駆体細胞株由来のmyotubeを使用した。病態解析においては運動ニューロンと骨格筋のいずれともSBMA患者由来に加え、運動ニューロンは患者由来、骨格筋は健常者由来、逆に運動ニューロンは健常者由来、骨格筋は患者由来というキメラ組織を用いて病態解析し、骨格筋の病態への寄与を明らかにすると回答された。</p> <p>以上のように、運動ニューロンの機能解析という課題を残すものの、本研究で示されたヒト多能性幹細胞からの運動ニューロンの分化誘導方法、可視化、純化方法はSBMAを含めたあらゆる運動神経変性疾患のモデル構築において有用であり、有意義な研究であると評価された。</p>				