

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏名	小平 真幸
論文審査担当者	主査 内科学 福田 恵一			
	生理学 岡野 栄之		整形外科 中村 雅也	
	内科学 鈴木 則宏			
学力確認担当者	河上 裕		審査委員長	岡野 栄之
			試問日	平成28年 9月 6日

(論文審査の要旨)

論文題名：Impaired respiratory function in MELAS-induced pluripotent stem cells with high heteroplasmy levels
(MELAS患者由来iPS細胞における変異率と呼吸機能の関係)

代表的なミトコンドリア病であるMELAS (Mitochondrial myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, Stroke-like episodes) は有効な治療法がなく、病態解明や薬物スクリーニングに使用可能なヒト疾患モデルの樹立が求められている。本研究では、ミトコンドリアDNAにおいてm.3243A>G変異を有するMELAS患者の皮膚線維芽細胞からiPS細胞を樹立した。樹立した多数のiPS細胞株の間でm.3243A>G変異率は幅広く分布したが、長期培養および線維芽細胞への分化において全体としては変異率の大きな変動はなかった。また、分化した細胞におけるミトコンドリア呼吸機能を検討したところ、MELASの病態を反映した複合体Iでの機能低下および変異率70%を境とした閾値効果がiPS疾患モデルにおいて再現できることが示された。

審査では、まず線維芽細胞へ誘導して評価した理由を問われた。心筋への分化効率が悪く解析に必要な量が得られず線維芽細胞での解析となったが、神経への分化は今後実施したいと回答された。次に変異率と疾患の表現型、重症度の相関について問われた。MELASの患者では閾値は70%~90%の間で異なる報告がなされており、本疾患モデルでの検討では十分とはいえず、更に複数の患者での検討が必要であると回答された。さらに、臨床ではてんかんや脳卒中様症状は発作的に起きるがこの機序について問われた。本研究で確認されたm.3243A>G変異率の変動が関係している可能性があるかと回答された。また、対照群の設定の妥当性について問われた。共同研究機関で保存されていた変異を伴わない10人の健常線維芽細胞サンプルの呼吸機能の平均を対照群に設定したが、同条件で比較するためには本来は複数の健常人から樹立したiPS細胞から分化させた細胞を対照群に設定すべきであったと回答された。呼吸機能についての解析結果でエラーバーが記載されていないことについて問われた。3回の測定結果の平均のみを提示したが、エラーバーは記載すべきであり、今後の研究では必ず記載するように努めると回答された。補酵素Q₁₀等の効果の薬物スクリーニングは行ったのか、また有効と考えられる薬剤はあったかに関し問われた。過去に臨床試験で試されてきた抗酸化作用のある薬剤やレスベラトロール等を試したが、有効性が証明できる薬剤がなかったと回答された。樹立したiPS細胞株が単一細胞由来か確認したか問われた。本研究では細胞集団全体としての変異率しか評価していないが、単一細胞由来であるか否か解析する、もしくは樹立する段階においてセルソーターで単一細胞にして培養することでリプログラミングの過程で起きている現象が解明可能になると回答された。

以上のように、本研究は検討すべき課題を残しているものの、難病であるMELASに対するヒト疾患モデルを構築し、変異率と呼吸機能の関係性を明らかにした点において、非常に有意義な研究であると評価された。