

論文審査の要旨及び担当者

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |       |   |     |         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|---|-----|---------|
| 報告番号                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 甲 ㊦ 第 | 号 | 氏 名 | 佐 藤 武 志 |
| 論文審査担当者 主 査 小児科学 長谷川 奉 延<br>産婦人科学 田 中 守 分子生物学 塩 見 春 彦<br>内科学 林 香<br>学力確認担当者：金井 隆典 審査委員長：田中 守<br>試問日：2024年12月20日                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |       |   |     |         |
| ( 論 文 審 査 の 要 旨 )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |       |   |     |         |
| 論文題名：Establishment of <i>Star</i> -edited Y1 cells as a novel <i>in vitro</i> functional assay for STAR<br>(新規 <i>in vitro</i> STAR機能解析系としての <i>Star</i> 遺伝子ゲノム編集Y1細胞の確立)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |       |   |     |         |
| <p>STARはステロイドホルモン合成に重要な蛋白質である。<i>STAR</i>異常症ではSTAR残存活性により古典型と非古典型に分類される。従来の非ステロイドホルモン産生細胞を用いた機能解析系では古典型のS195A変異体で症状に乖離した高い残存活性を示していた。本研究では、ステロイドホルモン産生能を有するマウス副腎皮質腫瘍由来Y1細胞から、S195A変異体を評価可能な<i>in vitro</i>新規STAR機能解析系の基盤となるゲノム編集Y1細胞を確立した。</p> <p>本細胞を用いたヒトSTAR変異体の残存活性はQ258*約7%, R272C約20%, S195A約14%と近い値であるが臨床症状の重症度の差を説明可能かと問われ、STAR異常症と同じく副腎不全を呈する21水酸化酵素欠損症において残存活性が1%未満と数%で臨床症状が違うことから、STAR異常症においても上記残存活性の差が臨床症状を説明しうると回答された。プロテオームでゲノム編集細胞のStar発現が野生型Y1細胞の1/3程度みられている点について問われ、腫瘍細胞であるため培養過程でインフレーションとなるような塩基配列変化が起きた可能性がある、ならびにその場合、活性が一部回復しうると回答された。関連し、ゲノム編集細胞でみられたdb-cAMP依存性の濃度上昇への影響について問われ、db-cAMP刺激下でのステロイドホルモン産生速度の評価で暴露6時間後の濃度を最終濃度とした時、野生型Y1細胞は刺激下2時間で最終濃度の2/3に達するのに対し、ゲノム編集細胞では最終濃度まで直線的に濃度上昇をしていたことから、ゲノム編集細胞でみられたdb-cAMP依存性の濃度上昇の要因として活性のあるSTARは否定的であると回答された。STAR非依存性ステロイドホルモン産生経路の機序について問われ、現時点では明確な機序は明らかになっていないこと、ならびに胎盤でSTAR非依存性ステロイドホルモン産生への関連が推測されているSTARD3について今回のプロテオームで本細胞のStar非依存性ステロイドホルモン経路と判断できる結果ではなかったと回答された。従来の機能解析系との差異について問われ、従来の解析系でもコレステロール輸送に関連する変異体は評価可能であった、そして、従来の解析系で評価困難であったS195AはSTARが活性を獲得するためのリン酸化に関連する変異体であったと回答された。腫瘍細胞由来であること、ならびにStarゲノム編集に関連し他の遺伝子の発現の変化によるステロイドホルモン産生への影響が問われ、本ゲノム編集細胞を用いた評価の限界として腫瘍細胞のためステロイドホルモン産生が平常時と異なること、また、ゲノム編集に関連した影響も否定できないと回答された。本細胞を用いた将来的なミトコンドリアをターゲットとした薬剤スクリーニングなどへの応用について問われ、腫瘍細胞のミトコンドリアのため難しいと推測していると回答された。</p> <p>以上、本研究には検討すべき課題を残すものの、従来の機能解析系よりも優れた<i>in vitro</i>新規STAR機能解析系の基盤となるStar遺伝子ゲノム編集Y1細胞を確立した点で、有意義な研究であると評価された。</p> |       |   |     |         |