

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	斉 藤 陽 一
論文審査担当者 主 査 生理学 牧 野 浩 史 分子生物学 入 江 奈緒子 先端医科学（がん免疫） 籠 谷 勇 紀 内科学 家 田 真 樹 学力確認担当者：金井 隆典 審査委員長：入江 奈緒子 試問日：2025年 7月17日				
(論 文 審 査 の 要 旨)				
論文題名：NEUROD1 efficiently converts peripheral blood cells into neurons with partial reprogramming by pluripotency factors (NEUROD1遺伝子と初期化因子による部分的リプログラミングを利用した末梢血細胞から神経細胞への直接転換の技術開発)				
本研究では、末梢血由来のT細胞にセンダイウイルスベクターを用いてNEUROD1と山中4因子（OCT3/4、SOX2、KLF4、c-MYC）を導入し、約20日という短期間で機能的な神経細胞が誘導され、その大半が多能性幹細胞状態を経ずに誘導されたことを報告した。				
審査では、山中4因子のうちc-MYC以外の因子を除外してもTC-N（T cell-derived neuron）を誘導可能かが問われた。OCT3/4、SOX2、KLF4については、同一のベクターに搭載されているため、検討していないが、c-MYC単独では誘導不可能であったと回答された。T細胞の純化とウイルス感染条件について詳細な説明を求められた。CD3抗体で刺激し、IL-2を含む培地で培養および複数回継代したT細胞を使用し、感染多重度については、既報（Sekiら、2010）に基づいたと回答された。1回の実験で得られるTC-Nのclonalityについて、TCRレパトワーを用いた解析について問われた。本件については、検討しておらず、今後の課題であると回答された。外因性遺伝子ex-KLF4などの発現がTC-Nで残存しているが、外因性遺伝子の発現を抑制しても神経細胞としての性質が維持されるかが問われた。未検討だが、成熟神経細胞では通常それらの発現が消失しており、TC-Nにおいても維持可能と考えられると回答された。シナプス機能の解析について質問された。シナプスマーカー（Syn-1）の発現を免疫染色やRNA-seqにて確認したが、機能解析は行っていないと回答された。誘導期間を延長すると神経細胞の成熟は進むのかという質問がされた。培養48日目程度まで行い、微小電極アレイを用いた電気生理学的試験を行ったが、明確な成熟促進効果は確認されなかったと回答された。TC-Nは、神経幹細胞を介して、誘導されるのかを問われた。Cre-LoxPシステムによる系譜解析により、半数程度の神経細胞はSOX1を発現する神経幹細胞、大部分の神経細胞はNESTINを発現する神経幹細胞を介しているであろうと回答された。TC-Nでは、なぜ外因性の遺伝子の発現がより強く残るのか質問された。遺伝子導入の際に非増殖型のセンダイウイルスを用いているため、iPS細胞など分裂回数の多い細胞においてはウイルスRNAが細胞分裂の過程で希釈・消去されてしまう一方で、分裂回数が少ない細胞への分化では発現が残存すると考えられている。このため、TC-Nの形成過程では、比較的少ない分裂回数でT細胞から神経細胞に誘導されたために、外因性の遺伝子の発現がより強く残るものと考察していると回答された。				
以上、本研究は、ドナーへの侵襲性を軽減しつつ機能的な神経細胞を短期間に大量作製できることから、創薬研究の発展に貢献すると期待される点で有意義な研究であると評価された。				