

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	小 島 孝 太
論文審査担当者 主 査 整形外科 中 村 雅 也 先端医科学 佐 谷 秀 行 内科学 福 田 恵 一 内科学 中 原 仁 学力確認担当者： 審査委員長：佐谷 秀行 試問日：平成31年 2月 7日				
(論 文 審 査 の 要 旨)				
論文題名：Selective Ablation of Tumorigenic Cells Following Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Stem/Progenitor Cell Transplantation in Spinal Cord Injury (自殺遺伝子を用いたiPS細胞由来神経幹/前駆細胞移植後の腫瘍化対策)				
これまで脊髄損傷に対するヒトiPS細胞由来神経幹/前駆細胞 (hiPSC-NS/PC) 移植の有効性が報告されてきたが、一部の細胞株では腫瘍を形成し、運動機能の低下が認められた。本研究では、過去に造腫瘍性を認めたhiPSC-NS/PCsに対して自殺遺伝子であるHSVtkを導入し、プロドラッグであるganciclovir (GCV) を投与することで、運動機能の改善を損なわずに腫瘍化を抑制することに成功した。 審査ではまず自殺遺伝子の導入法やsingle cloneを使用しているのかについて問われた。in vitroの実験では最も未分化であるiPS細胞の段階でレンチウイルスを用いて遺伝子導入し、single cloneを用いて分化誘導した。またin vivoの実験では、hiPSC-NS/PCsに遺伝子導入し、マウスの損傷脊髄に移植したと回答された。さらに導入された遺伝子のメチル化によるGCV耐性のリスクや、周辺の細胞に対するbystander effectがあるのかを問われた。本実験の特徴は、腫瘍化を未然に防ぐために未分化な細胞を除去できること、さらに腫瘍化した細胞も除去することができる点にある。しかし、導入した自殺遺伝子に変異をきたしてしまった場合、このシステムが機能しなくなる可能性がある。Bystander effectに関しては、既に終末分化したhiPSC-NS/PCs由来の神経細胞にはGCVの効果が弱いため、他の未分化細胞の細胞死の効率を上げることはあっても、弊害をもたらす可能性は低いと回答された。 次にdoxycycline (DOX) やGCVの投与によるマウスの生体内でのHSVtkの発現と発動を確認したか、そして臨床でのDOXを用いたセーフティロックの必要性や、GCV/ DOXの投与量に関して問われた。組織学的評価により、未分化細胞が優位に減少していた点から、DOXによるHSVtkの発現とGCVによるHSVtkの発動に成功したことが示唆される。しかし、DOX/GCVが移植細胞に届かなかったために、自殺遺伝子が発現・発動せず、未分化細胞が残存していた可能性はある。これらに関してはDOX/GCVの投与期間を延長することで未分化細胞を減らすことは可能である。しかし、GCVの長期投与による腎機能障害や肝機能障害の危険性も存在するため、投与期間は最小限に抑える必要がある。実臨床では安全性を第一に考え、Tet発現誘導システムを用いて自殺遺伝子の誤発動を防ぐような対策が重要であると回答された。 運動機能評価のグラフでPBS群にも機能回復がみられるため、より重度な損傷モデルで検討すべきではないかと問われた。圧挫脊髄損傷マウスでは自然経過とともにある程度の運動機能の回復が見られる。実臨床ではより重症な症例を想定しているものの、重度損傷を加えたマウスの生存率は低く、また運動機能評価が困難であることから、中等度圧挫損傷モデルを選択したと回答された。続いて腫瘍化する細胞としない細胞では運動機能の改善に差はあるのか、そして臨床で使用するhiPSC-NS/PCsは増殖能の高いほうがより良い結果に繋がるのかと問われた。in vitroでは、造腫瘍性細胞の方が分裂能が高い傾向にはあるが、分化傾向や運動機能回復においては明らかな違いを認めない。臨床ではNotchシグナル阻害剤による前処理を行い、ニューロンへ分化誘導した細胞を移植することで腫瘍化のリスクの軽減と運動機能の改善を期待していると回答された。 以上、臨床応用を目指すにあたって検討すべき課題が残されているものの、運動機能の回復を損なわずに腫瘍化を防ぐことに成功し、今後の脊髄損傷に対するhiPSC-NS/PCs移植の再生医療研究にとって有用な結果が得られことから、有意義な研究であると評価された。				