

学位授与番号：甲 1 0 0 4 号

氏 名：佐藤 洋平

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 28 年 3 月 9 日

学位論文名：

遅発型ポンペ病患者由来疾患特異的 iPS 細胞を用いた疾患モデリング及びレンチウイルスを用いた治療法の開発

主論文名：

Disease modeling and lentiviral gene transfer in disease-specific induced pluripotent stem cell form late-onset Pompe disease patient.

（遅発型ポンペ病患者由来疾患特異的 iPS 細胞を用いた疾患モデリング及びレンチウイルスを用いた治療法の開発）

学位審査委員長：教授 岡野ジェームズ洋尚

学位審査委員：教授 南沢享 教授 吉村道博

論文要旨

論文提出者名	佐藤 洋平	指導教授名	井田 博幸
--------	-------	-------	-------

主論文題名

Disease modeling and lentiviral gene transfer in disease-specific induced pluripotent stem cell from late-onset Pompe disease patient.

(遅発型ポンペ病患者由来疾患特異的 iPS 細胞を用いた疾患モデリング及びレンチウイルスを用いた治療法の開発)

Sato Yohei, Kobayashi Hiroshi, Higuchi Takashi, Shimada Yohta,

Era Takumi, Kimura Shigemi, Eto Yoshikatsu, Ida Hiroyuki, Ohashi Toya.

Molecular Therapy-Methods & Clinical Development, 2015; 2; 15023

ポンペ病は常染色体劣性遺伝形式をとるライソゾーム病であり、酸性 α グルコシダーゼの欠損により、全身の諸臓器にグリコーゲンが蓄積するため、進行性の筋力低下や肥大型心筋症を呈する。乳児期早期より症状を呈する乳児型と、幼児期以降に緩徐に発症する遅発型に大別されている。乳児型では高頻度に肥大型心筋症を呈することが知られているが、遅発型では心合併症は低頻度で、より軽症であると報告されている。したがって従来、遅発型ポンペ病の心合併症に関してはほとんど検討されていなかった。そこで、われわれは遅発型ポンペ病 iPS 細胞を用いて、疾患モデリングおよび遺伝子導入による治療効果を検討した。

その結果、遅発型ポンペ病 iPS 細胞においてもグリコーゲンの蓄積が高度にみられ、生化学的にも病理学的にも疾患特異的な変化が強く起きていることが明らかとなった。また、心筋に分化誘導した後にもグリコーゲンの蓄積やライソゾームの腫大が確認された。

さらに、欠損遺伝子を発現するレンチウイルスベクターを作成し、遅発型ポンペ病 iPS 細胞に遺伝子導入したところ、酵素活性の上昇、グリコーゲン蓄積量の減少が見られ、電子顕微鏡ではライソゾームの腫大やグリコーゲンの蓄積に関して改善が見られたが、グリコーゲン蓄積量は正常化には至らなかった。

以上の結果から、ポンペ病 iPS 細胞は疾患モデリングのツールとして有用であることが証明された。また、遺伝子導入により多くの疾患特異的な変化が可逆的であることが示されたが、グリコーゲンの蓄積に関しては正常化しておらず、より長期的に評価する方法の開発や異なる機序での治療法の開発などが必要である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

佐藤洋平氏の学位申請論文は、主論文1編、副論文3編からなり、主論文は「Disease modeling and lentiviral gene transfer in patient-specific induced pluripotent stem cells from late-onset Pompe disease patient.」という題名の英文論文で、2015年にMolecular Therapy – Methods & Clinical Development 誌(IF=6.227)に発表されております。以下、主論文の要旨と審査委員会の審査結果をご報告いたします。

去る平成28年2月22日、南沢享教授、吉村道博教授のご臨席のもと、公開学位審査委員会を開催し、佐藤洋平氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を行いました。

席上、

- ・ iPS細胞からのどの分化誘導段階において解析を行ったのか？
- ・ 遺伝子治療により酵素レベルが是正したのにグリコーゲン蓄積が正常化しないのはなぜか？
- ・ iPS細胞由来心筋細胞に機能的な異常は見られたのか？
- ・ 細胞株間でマーカー発現にばらつきが見られる理由はどのように説明するのか？
- ・ ミトコンドリアの形態・機能に異常は見られなかったのか？
- ・ 脂肪酸代謝に変化は見られたのか？
- ・ 酸化ストレスの病態への関与はどの程度か？
- ・ 分化誘導後の細胞における山中4因子の発現レベルはどうだったのか？

など多くの質問があり活発な議論が行われましたが、佐藤洋平氏は的確に回答いたしました。

その後、南沢享教授、吉村道博教授と慎重に審議した結果、本論文は学位申請論文として十分価値があるものと認めた次第です。尚、審査員により学位論文に訂正が必要な箇所が指摘されましたが、訂正が施され再提出された論文を確認し受理いたしました。