

審 査 結 果 の 要 旨

論文題目 「シアリドーシス患者由来iPS細胞から作成した網膜色素上皮細胞はオートファジー障害が起こっている」

学位申請者 Davaadorj Odontuya (ダワードルジ オドントヤ)

本論文は、N-アセチル α -ノイラミニダーゼ (NEU1) 遺伝子変異によるシアリドーシス患者由来の血液から iPS 細胞を樹立、この iPS 細胞から分化誘導した網膜色素上皮細胞からオートファジー機能が障害されていることを示した最初の論文である。

シアリドーシス TypeI 患者の末梢血液細胞、およびコントロールとして健常人細胞にセンダイウイルスを用いて初期化因子を導入し、iPS 細胞を樹立した。得られた細胞を非吸着培養皿で培養し凝集塊 (EB 体) 形成を通じて、RPE へと誘導した。この過程で、患者由来 EB 体の内部に健常人細胞由来では認められない脂肪滴、ミトコンドリアを含む構造体が観察され、NEU1 遺伝子突然変異によるライソゾーム消化系の障害により形成されるものと考えられた。網膜の視細胞のターンオーバーに強く関与している網膜色素上皮細胞においては、飢餓条件下で患者由来の網膜色素上皮細胞の LC3 産生量と LC3 斑点の発現量が健常人細胞のものより顕著に落ちていることが認められ、網膜色素上皮細胞におけるオートファジー初期過程の抑制がシアリドーシス患者由来細胞で認められることを明らかにした。

本論文に対して、各審査委員から次のような質疑がなされた。

- 1) 健常人コントロール細胞の詳細について。
- 2) EB 体および RPE における NEU1 機能欠損とオートファジー経路障害の関係。
- 3) iPS 細胞から RPE への分化誘導過程における NEU1 機能欠損の作用。
- 4) 何人の患者由来の細胞を使用したのか。一人の患者由来の細胞であった場合、コントロールのサンプルとの間の遺伝的背景の違いが問題にならないか。
- 5) 患者が有する NEU1 遺伝子の変異はミスセンス変異とあるが、これは機能欠損型の変異と考えられるのか。
- 6) シアリドーシスは発症度や重症度の異なる 2 つ (TypeI と TypeII) に分類できるとあるが、これらの差は遺伝子変異の違いに基づくのか。
- 7) KO マウスの表現型は重症度の重いタイプの疾患と同様であるのか。
- 8) NEU1 遺伝子にはファミリー分子として他の遺伝子 (NEU2 など) も存在するのか。もしあるとする場合、機能的リダンダンシーなどを有するか。また、それらの分子の発現パターンはどのような特徴があるのか。
- 9) 最新文献におけるエクソサイトーシスとの関連について。
- 10) 患者および正常人それぞれの iPS 細胞から網膜色素上皮細胞を分化させたときの能率の違い。
- 11) オートファジー機能の計測に LC3-II のみを用いているが、LC3-I の動態はどうであったか。
- 12) オートファジーの障害に加えて、NEU1 機能低下によるエクソサイトーシスの増強の可能性について考察しているが、オートファジーとエクソサイトーシスの関係はどのようなものか。
- 13) タイプ I とタイプ II シアリドーシスの臨床的特徴な違いについて。
- 14) 患者網膜上に観察される“チェリースポット”の形成とオートファジー障害との関連についてどのように考えるか。
- 15) 細胞間接着が弱く崩れやすい患者由来 iPS 細胞の 3 次元培養における問題点について。

これらの各審査員からの質問に対して申請者は、自身の研究成果と文献的な考察を交え、さらには問題点についても的確に回答し、本論文がシアリドーシス発症の分子機構の解明に繋がり得ることを示し、病態解明に価値高い研究である考えられた。また質疑応答を通じて、この分野に関して十分な知識と考察力が備わっていることが伺え、博士の学位を授与するのに十分な資格があると判断された。今後、オートファジー障害のより詳細な分子機構が解明され、オートファジー系の賦活化を含めた新たな治療法開発に結びつくことが強く期待される。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。したがって、申請者 **Davaadorj Odontuya** は東海大学博士（医学）の学位を授与されるに値すると判断した。

論文審査委員

主査	博士（医学）	永原 幸	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	秦野 伸二	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	鈴木 康之	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（理学）	大塚 正人	医学部准教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（理学）	紙谷 聡英	医学部准教授	（医学研究科先端医科学専攻）