

論 文 審 査 の 要 旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

飯沼 雅央

主論文の題目
および

掲載誌・審査委員

題 目

Induction of Neural Cells with Spinal Motoneuron Phenotype from Human iPS Cells and the Transplantation to Totally Transected Spinal Cords in Mice. (脊髄全切断マウスにおけるヒト iPS 細胞由来神経細胞移植後の脊髄再生メカニズムの検討)

掲載誌 Inflammation and Regeneration 2015 ; 35 : 154-163

主査 尾崎 承一

副査 舩橋 利也

副査 北岡 康史

[論文の要旨・価値]

根本的治療の無いとされてきた脊髄損傷に対して、申請者らは、ヒト iPS 細胞から分化させた神経細胞をマウス脊髄損傷モデルに移植して、その有効性を検討した（聖マリアンナ医科大学遺伝子組み換え実験安全委員会承認番号 TG101126-TG11112）。ヒト iPS 細胞を *retinoic acid* + *noggin* + *sonic hedgehog* で 4 日間刺激して得た神経細胞には、運動神経系関連遺伝子（*NCAM*、*NFM*、*β III tubulin*、*HB9*、*Islet1*）の遺伝子発現や細胞表面発現が認められた。C57BL/6 雌マウスの Th11 レベルの脊髄を 1 椎体分完全摘出し、その 9 日後にヒト iPS 細胞由来神経細胞 4×10^5 個を同部位に移植、対照群は PBS を投与した。移植群は歩行回復には至らなかったが、移植 167 日後までの下肢機能回復を *Basso Mouse Scale* を用いて評価すると、移植群では対照群より有意に改善が見られ、また、有意な生存期間の延長も認めた。移植後 1 ヶ月目の移植部位では、ヒト iPS 由来のヒト神経細胞含有組織がマウス脊髄組織を連結している組織所見が認められ、また、対照群に比し神経系マーカー（*β III tubulin*、*synaptophysin*）の高度な発現増強、および、*Glia* 瘢痕と関連する *glial fibrillary acidic protein* の発現抑制が認められた。移植群では損傷部位で *galactocerebroside* 陽性細胞が多数認められ、髄鞘の再構築の可能性が示唆された。また、神経トレーサーである *cholera toxin β subunit* (*CTβ*) を損傷上部に注入したところ、移植群でのみ損傷部尾側で *CTβ* が確認され、移植部位を経由した神経経路の連結が示唆された。

本研究は、ヒト iPS 細胞から移植に適した運動神経を分化誘導することができ、その神経細胞を移植することで、脊髄損傷部位での神経の修復と再生を目指すことが可能であることを示唆した点で、学位論文として価値のあるものである。

[審査概要]

審査は主査、副査に加え、複数の陪席者を迎えて行われた。PC を用いた 20 分の論文内容提示は要領よくまとめられており、特に移植後マウスの歩行の動画は印象的であった。提示後に行われた 30 分の質疑応答では、雌マウスを用いた理由、Th11 の同定法、移植実験で対照群として細胞を含まない PBS 投与群を選んだ妥当性、機能回復度と脊髄組織染色結果との相関性、iPS 細胞由来神経細胞の移植部位への定着の定量的解析、移植群での機能回復がシナプス形成によるものか神経栄養因子分泌によるものかの解析、本移植法の実現に向けた今後の研究の展開などにつき詳細に質問されたが、申請者は的確に返答した。また、真摯な発表態度も好感の持てるものであった。

最終試験結果の要旨

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価]

申請者は共同研究者がこれまで推進してきた実験系を発展させる形で研究を展開しており、研究能力は十分にあると考えられた。また、本研究での多くの実験を自ら実施しており、研究方法に関する質問にも的確に回答した。整形外科医から見た脊髄損傷の臨床についての専門的知識も十分に有していた。英語の読解力は引用文献の一つをその場で渡して *Summary* の一部を和訳してもらって評価したが、概ね的確に訳した。以上より、学位授与に値すると考えられた。