HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	もやもや病患者由来iPS細胞の血管平滑筋細胞への分化誘導；機能解析および遺伝子発現解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	東海林, 菊太郎
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第14078号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/78029
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号：2543
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Kikutaro_Tokairin_review.pdf (審査の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　東海林　菊太郎

	主査	教授	森本　裕二
審査担当者	副査	教授	工藤　與亮
	副査	教授	神谷　温之
	副査	教授	田中　真樹

学 位 論 文 題 名

もやもや病患者由来 iPS 細胞の血管平滑筋細胞への分化誘導；
機能解析および遺伝子発現解析
(Differentiation of vascular smooth muscle cell from iPS cell of moyamoya disease patients; functional and gene expression analysis)

もやもや病患者由来の iPS 細胞から平滑筋細胞を分化誘導し、その平滑筋細胞に対して細胞機能解析と遺伝子発現解析を行った研究である。先行研究の内皮細胞と比較しても、平滑筋細胞にはもやもや病と健常者で差が少ないという結果であったが、もやもや病平滑筋細胞モデルを確立したことは意義があると考えられる。

審査にあたり、まず副査の工藤教授から培養元となる細胞は病変部から採取した方がよいのではないかという質問があり、手術中にそれらの部位の血管を採取することは術式の面からも倫理面からも困難で、また生命予後は良好な疾患であるため剖検による採取も難しいと回答した。また、研究対象のサンプルサイズが少ない点について質問があり、申請者は iPS 細胞の樹立および維持、培養にかなりの労力を要するため 6 サンプルでも大学院生一個人で維持培養や分化誘導を行うのは手一杯であったと回答した。また、サイトカインやシェアストレスなどの環境要因を加えての検証も必要なのではないかと質問があり、今後、そういった因子を作用させたうえでの解析も行い検証したい旨、回答した。

続いて副査の神谷教授から、遺伝子発現に差があった decorin の細胞生物学的なバックグラウンドについて質問があり、decorin が平滑筋細胞で作られて血管壁に存在するタンパク質である等、回答した。また、もやもや病の病態の理解として「内頚動脈終末部の内膜肥厚」があるから「脳底部の異常血管網の増勢」が起こるのかという質問があり、申請者は確定的ではないが最近の知見ではそのように考えられていると回答した。また、iPS 細胞のフィーダーフリーが既存の方法（フィーダー細胞上の培養）と比較しどういったメリットがあるのかについて質問があり、平滑筋細胞の分化誘導の際は、フィーダーフリー状態に馴化させてから分化誘導を行う必要があり、これまで報告されている iPS 細胞から平滑筋細胞を分化誘導するプロトコールも、すべてがフィーダーフリーの状態で行われていると回答した。また、RNF213 の発現の局在について質問があり、申請者は RNF213 が血管系に多く発現していることは知られているが、部位的な局在は知られていないと回答した。

続いて副査の田中教授からもやもや病の発症年齢が二峰性であることと病因について質問があり、小児は脳虚血で発症することが多く、成人は脳出血で発症することが多いため、同じスペク

トルで病状が進行していくなかで、まず起こる虚血に耐えられずに症状を出したものが小児期に発見され、その時期を症候化することなく乗り越えた集団では次は成人になった段階で脳出血にて発症する、と考えられていると回答した。また、分化誘導を始める前に、細胞がマイコプラズマに感染していないかを確かめているが、iPS 細胞に特徴的な行程なのかという質問があり、申請者は細胞培養一般にいえることと認識していると回答した。また、内皮細胞についても体の部位ごとに胚葉の起源が異なるとかという質問があり、申請者は内皮細胞では、そういった事象はないと回答した。また、病態解明が脳神経外科医としてどう臨床に活きてくるかについて質問があり、疾患スクリーニングと創薬を挙げ、無症候例に関して現状では経過観察して症候化した段階で手術するしか選択肢がないものが、病態がわかり薬物療法が開発されれば病状の悪化や症候化を防ぐことが可能になりうると回答した。

最後に主査の森本教授から、過去の論文では「平滑筋前駆細胞」を作製してその解析を行ったという説明であったが、今回の研究で用いたプロトコールでも平滑筋細胞だけでなく「平滑筋前駆細胞」も作ることができるのかという質問があり、本研究のプロトコールでは作製することはできず、また「平滑筋前駆細胞」はその存在すら真偽のほどが疑われていると回答した。また、血管平滑筋細胞には「収縮型」と「合成型」があって今回の研究では「収縮型」しか作製できなかったということについて質問があり、申請者は「合成型」の分化誘導も試みたができなかった、今後の展望として「合成型」のプロトコールの樹立、もしくは「収縮型」から「合成型」への転換方法を発見することが期待されると回答した。また、過去に患者検体の浅側頭動脈由来の平滑筋細胞を、内皮細胞と共培養した、という報告があるかについて質問があり、申請者はそういった研究は過去にはないと回答した。

この論文は、もやもや病患者由来の iPS 細胞から平滑筋細胞を樹立し、かつ機能解析および遺伝子発現解析を行った事において高く評価され、今後のもやもや病の病因や病態生理の解明についての研究への発展が大いに期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。