



Title	ゲノム組み込みを介さない方法を用いた劣性栄養障害型表皮水疱症ヒト表皮細胞からのiPS細胞の樹立 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	松村, 若菜
Description	配架番号 : 2421
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13256号
Issue Date	2018-06-29
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/71251
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Wakana_Matsumura_review.pdf, 審査の要旨



(様式 16)

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 松村 若菜

主査 教授 佐々木 秀直
審査担当者 副査 教授 田中 真樹
副査 教授 神谷 温之
副査 教授 森本 裕二

学 位 論 文 題 名

ゲノム組み込みを介さない方法を用いた劣性栄養障害型表皮水疱症ヒト表皮細胞からの
iPS 細胞の樹立

(Establishment of integration-free induced pluripotent stem cells from human
recessive dystrophic epidermolysis bullosa keratinocytes.)

審査にあたり、まず副査の神谷温之教授より、センダイウイルスベクター(SVV)のデメリットについて、iPS 細胞の癌化機構はレトロウイルスベクターによるものか、今回の研究で iPS 細胞作製に用いた方法は他の疾患においても用いられている例はあるか、SVV で細胞融合は生じないか、質問があった。申請者は、SVV は感染細胞による感染効率にばらつきがある、また iPS 細胞の癌化機構はウイルスベクターによるものの他、リプログラミング自体による癌化のリスクがある、他疾患では糖尿病患者細胞からの iPS 細胞の樹立の報告がある、本研究では明らかな細胞融合の所見は認めなかったと回答した。副査の田中真樹教授からは、今回の研究の新規性に関する質問があった。始めに、角化細胞から iPS 細胞を樹立する方法は既に報告されているのか、既に報告されているのであれば正常の角化細胞から iPS 細胞を樹立するのと技術的に何が違うのか、質問があった。申請者は、正常角化細胞や他のベクターを用いて表皮水疱症患者細胞から iPS 細胞を樹立した報告はあるが、SVV を使用した表皮水疱症患者角化細胞由来の iPS 細胞の樹立の報告はこれまでないこと、また SVV の感染効率にばらつきがある中で角化細胞でも樹立できたこと、VII 型コラーゲンに異常がある患者角化細胞でも iPS 細胞が樹立できることを証明したと回答した。次いで、SVV に多重感染すると細胞死をきたす機序について、ベクターの性質に因るものなのか、一般的に強発現すると細胞死をきたし易くなるのか、質問があった。申請者は、ウイルスベクターの中でも SVV は比較的細胞障害性が少ないとされるが、本研究において MOI = 10 において膨化した角化細胞を認めたこと、その機序は未検討であることを回答した。また、復帰変異モザイクに関して、この機序に因る修復は角化細胞でしか生じないのか、皮膚以外の組織で高率に生じている可能性はないのか、質問があった。申請者はこれまで筋ジストロフィーにおける筋組織や遺伝性免疫不全症における血液でも復帰

変異モザイクが報告されている、また表皮水疱症における復帰変異モザイクは皮膚で顕在化するため、表皮のみで報告されているが、他の組織で起こっている可能性は十分ある、しかし、VII 型コラーゲンの変異蛋白や変異のある遺伝子がこの現象の誘引となっているとすれば、表皮のみで起こっている可能性もあると回答した。副査の森本裕二教授から、実際の患者を見ていると確かに正常な皮膚の所があるが、これは未発症(いずれ発症するおそれあり)というよりは復帰変異した部位と考えるべきなのか、復帰変異の機序はどこまでわかっているか、復帰変異の機序を応用すれば表皮水疱症の治療に結びつけられないか、今回の研究は将来の皮膚移植に繋がると思われるが、表皮水疱症の患部に皮膚移植しても生着し難いということはないか、との質問があった。申請者は、復帰変異モザイクは病変部位が後天的に正常化することを指すが、中には水疱が生じないのみならず瘢痕も全く認めず、生前から遺伝子的にモザイクであったと思われる部位もあること、しかし、遺伝子変異があっても外的刺激を受けにくい部位であるために正常に見える場所も存在するため臨床的な判断が難しいこと、また人為的に復帰変異モザイクのみを引き起こす事ができれば理想的であるが、有棘細胞癌も高率の起こる疾患のため、紫外線照射等、癌化を引き起こす危険性を伴うと考えられること、現在、詳細な機序は不明だが、遺伝子修復機構における染色体の体細胞組み換えの一つである *loss of heterozygosity* の機序による復帰変異モザイクの例も報告されていること、VII 型コラーゲンの遺伝子変異が正常化した培養表皮臨床試験では生着は良好であったこと、などについて回答した。最後に主査の佐々木秀直教授より、SSV に感染した細胞では導入した遺伝子は宿主のゲノムに取り込まれないが、細胞のリプログラミングを起こして安定した iPS 細胞になる機序について、質問があった。申請者は SVV の消失後、iPS 細胞が未分化性を維持する機序については未検討であると回答した。

この論文は宿主ゲノムに変化をきたさない手法を用いて iPS 細胞を作成する基盤技術であること、患部皮膚において復帰変異をきたした細胞を用いて iPS 細胞を作成することにより、移植組織に対する免疫学的な拒絶反応を回避できること、など基盤技術開発と臨床応用の可能性を示した点で高く評価され、今後の臨床応用が期待される。

審査員一同は、基盤技術の確立と臨床応用への展望に関して、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や単位取得なども併せ、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。