



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Establishment of a Novel Method for Differentiating into Dopaminergic Neurons Using Charged Hydrogels [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	范, 彬
Description	配架番号 : 2920
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16428号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95562
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Fan_Bin_review.pdf, 審査の要旨



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 范 彬

主査 教授 吉川 雄朗
審査担当者 副査 准教授 夏賀 健
副査 准教授 山崎 美和子

学 位 論 文 題 名

Establishment of a Novel Method for Differentiating into Dopaminergic Neurons Using Charged Hydrogels

（基質荷電を用いたドパミン作動性神経細胞への新規分化法及び治療法の確立）

パーキンソン病は黒質線条体経路に存在するドパミン神経細胞の変性により生じる神経変性疾患の一つである。主な治療法としてレボドパによる薬物治療があげられるが、治療初期には一定の効果が得られるものの、徐々に薬効が減弱することから、新たな治療法の確立が望まれている。新規治療の中で iPS 細胞をドパミン神経細胞へと分化させ、これらをパーキンソン病患者に移植して治療する試みがなされている。本学位論文において范彬氏はよりドパミン分泌能力が高い細胞を短期間で iPS 細胞から分化させるために、iPS 細胞の培養環境に着目した。范氏は条件の異なる様々なハイドロゲルを準備し、荷電を帯びたハイドロゲル上で iPS 細胞を培養することにより、短期間でドパミン細胞への分化を誘導できることを新たに見いだした。従来法と比較し、范氏の開発した方法を用いることで、ドパミン神経細胞が発現する TH や AADC といったドパミン生合成に必要な酵素の発現量が増加することを示している。また范氏の開発した手法により作成されたドパミン神経細胞をマウスに移植すると、実際に L-DOPA やドパミン濃度が増加することを移植動物モデルで示している。また RNA sequencing による iPS 細胞の解析結果も併せて示された。

プレゼンテーション後に副査の夏賀健氏、山崎美和子氏、吉川雄朗氏の3名との質疑応答がなされた。まず夏賀准教授からハイドロゲルの作成に係るコストについての質問があり、安価に作成できると回答した。次に in vivo モデルにおける L-DOPA の濃度についての質問があった。iPS 細胞の移植による L-DOPA の濃度上昇がパーキンソン病の症状を改善するために十分なものかどうかについて問われた。申請者は十分であるとの回答であった。また移植した iPS 細胞の生存期間についての質問があった。移植後1日後において末梢血中の L-DOPA の濃度が増加しており、7日後でも引き続き有意な L-DOPA の濃度上昇が確認されていることから、少なくとも7日間は生着していることが予想される。それ以上は現時点ではわかっていないため今後の検討課題であるとの回答であった。

次に副査の山崎准教授からの質問が行われた。最初の質問は分化した細胞を移植する部位についてのものであり、申請者は分化した iPS 細胞を末梢組織（皮下）に移植しているが、病態を考えると脳内に投与すべきではないか、との質問がなされた。申請者は、分化した iPS 細胞が末梢組織でドパミンを分泌すると、交感神経系の賦活化による副作用が予想されるため、ドパミンの前駆物質である L-DOPA は分泌するがドパミンは分泌しない新たな

細胞を樹立していることを述べた。この細胞では AADC (aromatic acid decarboxylase、L-DOPA からドパミンを生合成するために必要な酵素) を欠損させることにより、L-DOPA だけを分泌できるようにしたい、との回答であった。次に分化した細胞が VMAT2 (vesicular monoamine transporter2) を発現しているかどうかについての質問がなされたが、検討していない、との回答であった。

最後に主査の吉川教授からの質問が行われた。分化したドパミン神経細胞を移植されたマウスにおいて、L-DOPA の血中濃度が徐々に減少していることについての対応策についての質問がなされた。移植後の生着率は分化度と関連する事も報告されており、分化させすぎると生着率が低下するのではないかと指摘があったが、今後の検討課題であるとの回答であった。また iPS 細胞を用いた細胞移植の問題点として奇形腫の発生があげられることについての質問がなされた。未分化な iPS 細胞が残存すると奇形腫が発生するリスクが考えられることから、既報では cell sorting により未分化な細胞を除去していたが、本研究では sorting がなされておらず、どのように対応していくのかについての質問であった。申請者は sorting によりハイドロゲルへの接着が低下することから、今回は実施できなかったと述べ、細胞分化と未分化細胞の除去を両立したプロトコルの確立も今後の課題としてあげられることを述べた。

この論文は、Biochem Biophys Res Commun 誌に既に発表されており、新たな素材を用いて高いドパミン分泌能を持つ iPS 由来細胞を取得する方法を提供していることから、iPS 細胞を用いた今後の再生医療の発展に大きく貢献することが期待される。

審査委員一同は、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十分な資格を有するものと判定した。