

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 白井 博志

論 文 題 目

Transplantation of human embryonic stem cell-derived retinal tissue  
in two primate models of retinal degeneration

(ヒト胚性幹細胞由来網膜組織のサル視細胞変性モデルへの移植)

論文審査担当者

主 査

委員

名古屋大学教授

高橋徳英

名古屋大学教授

委員

室原豊明

名古屋大学教授

委員

藤本 勇士

名古屋大学教授

指導教授

寺崎信治子

別紙1-2

## 論文審査の結果の要旨

今回、サル視細胞変性モデルを作成するとともに、ヒト胚性幹細胞(hESC)由来網膜組織移植後の生着状況を網膜変性ラットおよびサルを用いて観察した。まず、hESC由来網膜組織の移植を、移植時の分化日齢50~150日の範囲でヌードラットおよび網膜変性ヌードラットの網膜下に行い、視細胞の成熟およびホストとの統合を確認した。次いで、カニクイザルおよびアカゲザル8頭11眼の中心窓外の領域に塩化コバルトの網膜下注射もしくはパターンスキャンレーザー照射を行い、視細胞変性を局所的に引き起こした。最後に分化60日齢前後のhESC由来網膜組織の移植を視細胞変性サル3頭4眼に行い、移植片は成熟して視細胞層を形成し、ホスト二次ニューロンとシナプス形成することが示唆された。この結果、将来の臨床応用における実用的なツールが提供されるとともに、hESC由来網膜組織移植の臨床的可能性が示された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 無血清培養液と浮遊凝集塊培養を組み合わせたSFEBq法を用いて、hESCの細胞凝集塊を浮遊培養すると、凝集塊は自発的に眼胞を形成し、眼杯、そして網膜色素上皮および感覚網膜を形成する。長期培養にて感覚網膜は視細胞へも分化するが、何層にもわたる外節を形成するほどの成熟はしない。
2. 未熟な感覚網膜を切り出して移植するため、移植網膜からは、視細胞だけでなく二次ニューロンや三次ニューロンも形成される。移植後、グラフト立体網膜内において二次ニューロン以降が剥がれたような形となってグラフト視細胞とホスト二次ニューロンが接合する形を目標としている。
3. 組織学的検討にて、塩化コバルトによる障害ではすべての網膜色素上皮の部位において、そのマーカーが陽性となり残存が示唆されたが、レーザーによる障害では一部マーカー陰性となる領域もあり、一部欠損が示唆された。
4. 正常網膜への移植では、ホスト視細胞が物理的障壁となり、グラフト視細胞とホスト二次ニューロンの接合が起りにくくなってしまった。視細胞のない変性網膜の方がグラフト・ホストの接合が起りやすいと考えられた。
5. 移植片の視細胞はロゼット構造を形成してしまうので、杆体において視物質サイクルが難しいと推察され、ホスト二次ニューロンとシナプス形成しても通常の見え方を回復するのは難しい可能性がある。またシナプス形成数も部分的であるため、まずは光を知覚できるようにすることが臨床応用としての第一段階と考えられる。
6. 杆体と錐体への障害の程度に関し、組織学的検討にて大きな差は認められなかつた。機序的に考えると塩化コバルトでもレーザーでも杆体もしくは錐体への障害の程度に大きな違いは出ないものと考えられる。

本研究は、ヒト多能性幹細胞由来視細胞移植の臨床応用に重要な知見を提供した。

以上の理由により、本研究は博士(医学)の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

別紙2

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	白井 博志
試験担当者	主査	高橋 雅英	室原 豊明	藤本 重一
	指導教授	寺山 勝彦		

(試験の結果の要旨)

主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。

1. 移植網膜の培養方法およびその成熟に関して
2. 移植網膜がどのような種類の網膜神経細胞に分化するかに関して
3. サル視細胞障害モデルにおける網膜色素上皮の残存に関して
4. 立体網膜の正常網膜への移植と変性網膜への移植の違いについて
5. 移植して視機能回復した後の見え方に関して
6. サル視細胞障害モデルにおける杆体と錐体の障害の程度の差について

以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、眼科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員会議の上、合格と判断した。