

### 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 小野寺 一成

論 文 題 目

Unveiling synapse pathology in spinal bulbar muscular atrophy by genome-wide transcriptome analysis of purified motor neurons derived from disease specific iPSCs

(疾患特異的 iPS 細胞から誘導した純化した運動ニューロンにおけるゲノムワイドなトランスクリプトーム解析による球脊髄性筋萎縮症のシナプス病態の解明)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

山中 宏二 


名古屋大学教授

委員

大野 欽司 


名古屋大学教授

委員

尾崎 宗文 

名古屋大学教授

指導教授

勝野 雅央 

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) は、アンドロゲン受容体 (AR) の遺伝子異常により運動ニューロン変性を呈する神経筋疾患であるが、分子病態は未だ詳細には解明されていない。この研究では、SBMA 患者から複数の iPS 細胞を樹立し、運動ニューロンに分化誘導して、ヒト由来細胞を用いた疾患モデルを作成した。運動ニューロン特異的レンチウイルスレポーターとフローサイトメトリーで運動ニューロンを純化し、網羅的トランスクリプトーム解析を行い分子病態を探索した結果、SBMA においてシナプス病態が深く関与することを明らかにした。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 原因遺伝子である AR の CAG リピート数が多いと発症は若年となり、重症度も高いことが知られている。表現促進現象がまれである SBMA では、際立って長いリピート数はなく、今回樹立した iPS 細胞に用いた SBMA 患者の CAG リピート数 (47~52) が一般的と考えられた。リピート数が多い SBMA 患者では強い表現型を呈することも想定されるため、今後は CAG リピート数を指標とした解析も検討する必要がある。

2. 運動ニューロンの誘導効率について、今回の手法は約 50%程度の分化誘導効率と報告されている。今回は運動ニューロン特異的な *HB9<sup>e438</sup>::Venus* レンチウイルスレポーターを用いてフローサイトメトリーにより Venus 高発現分画を分取したところ、運動ニューロンマーカーの大幅な発現上昇・アストロサイトのマーカーの発現低下を示しており、十分に純化されたと考えた。実際に純化後の遺伝子発現解析では、神経伝達物質やシナプス小胞に関わる遺伝子群の発現上昇が認められ、純化前と比較してシナプス病態がさらに浮き彫りとなった。





3. 成人発症の運動ニューロン疾患を、iPS 細胞から分化誘導した運動ニューロンでどの程度培養すると表現型が出現するかは、本研究では検討されていない。今回は神経前駆体へ分化誘導後、4週間の成熟培養が行われている。過去の報告でも同じ培養期間で変異 AR 凝集体を検出し得ておらず、変異 AR 凝集体がみられない状態での病態における遺伝子変化を検出していると考えられた。今後、疾患の臨床的進行度と、*in vitro* の表現型を対応させるような解析が重要である。

4. トランスクリプトーム解析で、SBMA 患者 iPS 細胞由来運動ニューロンはシナプス関連遺伝子群の高発現を示した。特に神経筋接合部 (NMJ) を形成するために重要な分子の発現が高く、運動ニューロン変性を反映した分子病態の変化を捉えた可能性が示唆された。SBMA のモデルマウスでは、NMJ の変性が示されており、実際の患者においてもシナプスに関連する病態が深く関わっていると考えられ、今後の病態解明や治療法開発につながる知見が得られた。

本研究は、球脊髄性筋萎縮症の病態解明のため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) の学位を授与するのに相応しい価値を有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	小野寺 一成
試験担当者	主査	山中 宏二 	副査 <sub>1</sub>	大野 欽司 
	副査 <sub>2</sub>	尾崎 宏二 	指導教授	勝野 雅央 
(試験の結果の要旨)				
<p>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。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. CAGリピート数とiPS細胞由来運動ニューロンの表現型の相関について</li> <li>2. 運動ニューロンへの分化誘導効率とその純化について</li> <li>3. SBMA患者由来運動ニューロンの表現型と臨床進行度の相関について</li> <li>4. SBMAにおけるシナプス病態について</li> </ol> <p>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、神経内科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				