

氏 名（本籍） ^{いしだ}石田 ^{じゅんこ}順子 （ 兵庫県 ）

学 位 の 種 類 博士（医学）

学位授与番号 甲 第 640 号

学位授与日付 平成 29 年 3 月 17 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当

学位論文題目 **iPS 細胞由来網膜色素上皮細胞移植のための NaIO₃ 誘因網膜色素
上皮変性げっ歯類モデルの特性評価**

審 査 委 員 教授 宮本 修 教授 松田 純子 教授 山口 佳之

論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

網膜色素上皮細胞（RPE）が障害されることによって起こる加齢黄斑変性症（AMD）は、高齢者の主要な失明原因の一つであり、その新しい治療として多能性幹細胞より作製した RPE 移植の有効性が報告されている。今後、RPE 移植の確立のために適切な動物モデルを使用し基礎データを積み上げていく必要がある。RPE 障害モデルとしては RCS ラットやヨウ素酸ナトリウム（NaIO₃）全身投与ラットが一般的であるが、齧歯類は黄斑部を持っておらず、前臨床研究における治療評価には霊長類モデルの確立が必要である。この場合、動物愛護の観点から両眼の失明となる NaIO₃ の全身投与ではなく局所投与による片眼モデルとすることが望ましい。本研究では霊長類を用いた前臨床研究を念頭に置き、NaIO₃ 硝子体内投与でラット片眼に RPE 変性を誘発可能か検討した。ラット片眼に 0.005～0.02mg/μl 濃度の NaIO₃ 溶液を投与して網膜内・外層厚の経時変化を光顕および電顕レベルで観察したところ、0.01mg/μl 濃度の溶液の場合に AMD 類似の病態を示した。すなわち、RPE 障害が NaIO₃ 投与 3 日目から観察され、その後網膜外層に TUNEL 陽性視細胞が出現して外層厚が菲薄化していった。この際、網膜内層や NaIO₃ 非投与眼には障害は見られなかった。次に、ヒト iPS 細胞から作製した RPE を NaIO₃ 投与 2 日後に移植すると網膜外層の障害が軽減された。以上の結果より、本手法によって片眼 RPE 障害モデルの作製が可能であることが示された。

RPE 移植治療の目的は視細胞死を防ぐことであることから、その実施は視機能が保たれている時期に行われる。従って、移植治療に伴う合併症などについて十分な検討が必要である。本研究によって確立された片眼 RPE 障害モデルの作製手法は、霊長類モデルに応用されることで RPE 移植の前臨床研究に貢献することが期待される。

学位審査会（最終試験）の結果の要旨

学位申請者から AMD に対する RPE 移植治療の現状とその有効性が話され、その臨床応用には霊長類の片眼 RPE 障害モデルが必要であり、学位研究では片眼 RPE 障害モデルの作製手法確立のためにラット用いて NaIO_3 の硝子体内投与を検討したことが説明された。 NaIO_3 の適切な投与量によって、最初に RPE が障害され、その後に視細胞が障害されていくことが、ヘマトキシリン・エオシン染色や免疫染色、さらに、電子顕微鏡を使った観察などによって示された。次にヒト iPS 細胞から作製した RPE の移植によって組織障害が軽減することが示された。審査会では追加データとして網膜電図測定による早期視細胞電位（a 波）のデータも示され、 NaIO_3 の局所投与によって a 波が消失するが、RPE 移植によってその消失が抑制され、本モデル動物が機能的にも AMD に対する移植治療効果の判定に有用であることが示された。学位申請者のプレゼンテーションの後、審査委員との質疑応答が行われた。 NaIO_3 の作用機構、網膜障害の生体における経時的変化の観察法、ヒト iPS 細胞による移植治療の位置づけ、硝子体内投与のポイント、網膜電図の具体的な測定手法、移植による効果の機構、サルの AMD モデルなど、多彩な質問がなされた。これらの質問に対して申請者はこれまで得られている先行研究の結果を踏まえながら的確に回答し、申請者本人が主体となって行った研究であることが示され、本研究が RPE 移植治療の発展にとって大いに意義のあることが理解された。

審査会において、本研究の学術的重要性、研究手法の妥当性と応用性、結果の解析・洞察ともに学位研究として十分な水準に達しており、今後さらなる研究の発展が望めると考えられた。審査委員による合議の結果、本申請者の学位審査は合格と判定した。