

氏名（本籍） 瀬戸口 義尚 （ 宮崎県 ）

学位の種類 博士（医学）

学位授与番号 甲 第 689 号

学位授与日付 令和3年3月11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 Functional assessment of retinal pigment epithelium cell transplants with various degrees of pigmentation for age-related macular degeneration

審査委員 教授 石原 克彦 教授 大友 孝信 教授 嶋 雄一

#### 論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

失明の主要な原因である加齢黄斑変性は老廃物の貪食により網膜のホメオスタシスを維持する網膜色素上皮細胞 (RPE) の機能低下により発症すると考えられ、滲出性炎症を惹起する VEGF の作用を抑制する抗 VEGF 抗体薬の硝子体注射療法が行われている。近年開発された iPS 細胞由来 RPE の移植療法では変性の進行を抑制するものの視力回復までの効果は得られていない。本研究では移植する RPE の最適な状態を把握すべく、市販のヒト初代培養 RPE (h-RPE) を用いて試験管内での解析を行った。h-RPE の色素量は解凍・培養開始後早期には低いが、継代を重ねると高色素の h-RPE が増加し優位となってくる。RPE の色素は眼球内の光の反射を減弱させて視覚に適した微小環境維持に役立つことから、高色素 h-RPE は低色素 h-RPE よりも成熟しており移植に適するとの仮説を立てた。眼科学 1 教室で独自に開発された方法を用いて h-RPE の色素量を評価し、低色素と高色素の h-RPE で、接着性、貪食能、貪食能関連マーカー遺伝子 *MERTK* 発現量と VEGF 産生量を比較解析した。その結果、高色素 h-RPE と比較して低色素 h-RPE の方が接着性及び貪食能が高く、VEGF 産生量も低い、即ち移植に適した性質を有していることが判明し、仮説は否定された。高色素状態は成熟よりは加齢性の変化であるとの可能性を検証すべく、老化に関連して産生が亢進するβガラクトシダーゼ及び IL-6 を定量したところいずれも高色素 h-RPE で産生が増加していた。これらの結果より、加齢黄斑変性で機能低下した RPE を補う移植療法には、すでに細胞老化を来たしたと考えられる高色素 h-RPE よりも、接着能と貪食能に優れる低色素 h-RPE の方が適していると結論した。生体での検証は行われていないが、iPS 由来 RPE 移植療法の治療効果改善に向けて有用な知見を提供する論文である。

## 学位審査会（最終試験）の結果の要旨

加齢黄斑変性について疾患概念、病態、治療法開発の歴史と現行治療法、治療上の課題について模式図を用いてわかりやすく説明した。実験についても背景、目的、仮説、方法、結果、解釈、考察が明確に提示された。h-RPE において、分化した高色素 RPE の方が移植に適するとの当初の仮説に反して、接着性、貪食能、VEGF 産生の観点から、低色素 RPE は有用な機能を保持し炎症惹起性が無いこと、そして高色素状態は成熟というよりは、むしろ加齢性の変化であることなど、貴重な知見を得たことを示した。

質疑応答においては真摯かつ的確に回答した。遺伝子素因・環境因子・人種について適切に回答した。実験操作に関連した質問に対して低色素細胞と高色素細胞の状態について具体的かつ詳細に回答した。h-RPE の試験管内解析で得られた知見が iPS 由来 RPE を用いた治療法においてどの程度有用かという点については、両者の関係についての文献的根拠は必ずしも十分ではないものの形態学的特徴、培養条件等から両者には類似性があり、本研究で得た知見は iPS 由来 RPE 移植療法の改良に向けての有用性があるとの独自の判断を示した。iPS 由来 RPE の移植療法では RPE をシート状に培養して移植していること、また細胞の品質管理チェックに時間がかかることから、培養 RPE から低色素細胞のみを選別して速やかに移植することに関する limitation があることも認識しており、これらを適切に説明した。試験管内での継代培養において細胞老化が観察されることは、実際の移植療法を行った時に生体内でも加齢性変化が進行する可能性を示唆するのでは、との質問に対して、本研究における limitation であり、動物実験での検討が必要との認識を示した。

以上のように、瀬戸口大学院生は、研究課題に真摯に取り組み、研究領域に関する専門性の高い知識を有し、今後の研究遂行に優れた能力を有する。